



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Caracterización de los géneros *Prevotella*, *Neisseria*,
Moraxella y *Veillonella* presentes en la microbiota pulmonar
de pacientes sanos y enfermos con Tuberculosis del
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER),
Cd. de México.

Informe Final de Servicio Social
PARA OBTENER EI TITULO DE LICENCIADA EN BIOLOGÍA

P R E S E N T A

HERNÁNDEZ H. DIANARELI

MATRÍCULA 2162028624

ASESORAS

EXTERNA

Dra. Eugenia L. Silva-Herzog Márquez
Laboratorio de Farmacogenómica
(INMEGEN)

INTERNA

Dra. Ruth Soto Castor
Laboratorio de Ecología Microbiana
(UAM-XOCHIMILCO)

CIUDAD DE MÉXICO, FEBRERO 2021

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I	4
I. MARCO TEÓRICO	4
Microbiota	4
Microbioma	4
Microbioma Humano	5
Factores que influyen en la composición del microbioma	5
Localización del microbioma	7
Papel funcional e importancia en el individuo	8
Papel del microbioma en el equilibrio salud-enfermedad	11
Microbioma Pulmonar	11
Principales géneros residentes del microbioma pulmonar	11
El microbioma y las enfermedades respiratorias	12
Tuberculosis	13
El microbioma en el nicho alveolar pulmonar y su papel en la infección por <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	13
Caracterización del microbioma	14
Secuenciación	15
Métodos de Secuenciación	15
A. Método de degradación química (Maxam y Gilbert, 1977)	15
B. Método Enzimático (Sanger, 1977)	18
Secuenciación de Nueva Generación	20
Illumina	21
CAPITULO II	22
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	22
II.Hipótesis	23
III. Objetivos	23
- Objetivo General	23
- Objetivos Particulares.....	23

CAPITULO III	24
I. MATERIALES Y MÉTODOS	24
A. Obtención de datos	24
B. Procesamiento de datos.....	24
C. Análisis de los resultados.....	25
CAPÍTULO IV	26
I. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
A. Caracterización de los Géneros bacterianos.....	26
I. <i>Prevotella</i>	26
II. <i>Neisseria</i>	37
III. <i>Moraxella</i>	48
IV. <i>Veionella</i>	62
B. Relaciones intra e interespecíficas de los géneros bacterianos.....	71
C. Factores que modifican el equilibrio de la microbiota pulmonar	81
CONCLUSIONES	84
LITERATURA CITADA	85
ANEXO	

INTRODUCCIÓN

Desde el nacimiento hasta la muerte, estamos colonizados por un numeroso y dinámico grupo de microorganismos, estos microorganismos que colonizan el cuerpo humano constituyen nuestra microbiota; en el humano, la microbiota está principalmente conformada por bacterias, arqueas, hongos y protozoarios (Vidal-Granel, 2003; Hernández y Bobadilla, 2017; Budden *et al.*, 2019), hay desacuerdo entre si incluir o no a los virus (Berg, *et al.*, 2020).

Cervantes y Sánchez (2017), señalan, que dicho consorcio de microorganismos excede en cantidad a nuestras células somáticas y germinales ($3.0 \cdot 10^{13}$), para ser más exactos, se estima que el número de células bacterianas en el cuerpo humano es de $3.8 \cdot 10^{13}$, que corresponde a 39 billones de células microbianas, en una proporción de 1.3:1 (Sender *et al.*, 2016). La microbiota en conjunto con sus elementos funcionales (metagenoma, transcriptoma, metaboloma y resistoma) y las interacciones que establecen con el medio en que se desarrollan conforman el microbioma (Ariza-Andraca y García-Ronquillo, 2016; Berg *et al.*, 2020).

El microbioma se constituye al momento de nacer, y va evolucionando durante la vida del individuo. Su composición depende de la vía de nacimiento (vaginal o cesárea), el tipo de alimentación antes y después de la lactancia (leche materna o fórmula), así como de otros factores como género, índice de masa corporal, los hábitos de higiene, uso de antibióticos, nivel de actividad física, además de la geografía del lugar que se habita (Ávila-Casanueva, 2013; Cervantes y Sánchez, 2017; Moreno del Castillo *et al.*, 2018).

En el hombre, las distintas partes del cuerpo, debido a factores fisicoquímicos como temperatura, nivel de oxígeno, tipo de nutrientes, etc., favorecen el desarrollo de comunidades microbianas (microbiotas) específicas a estos nichos, dando como resultado microbiomas en cavidad oral, gastrointestinal, piel, tracto respiratorio etc.

Uno de los microbiomas que se ha estudiado más ampliamente, es el microbioma intestinal (Zamudio-Vázquez *et al.*, 2017); debido a su facilidad y tipo de acceso en la obtención de muestras, así como por ser uno de los primeros microbiomas en

demostrar con estudios de asociación de enfermedades su implicación en estados de salud-enfermedad (López-Goñi, 2012; Brunser, 2013; Huffnagle *et al.*, 2017). Esta asociación entre enfermedad y salud se ha establecido también con el microbioma de la piel, el vaginal y en la última década el microbioma pulmonar ha tomado relevancia (Willyard, 2011; Dickson *et al.*, 2013).

Históricamente, los pulmones se habían considerado un nicho estéril, pero el uso de técnicas independientes de cultivo demostró que, así como el sistema digestivo, el sistema respiratorio posee una población de microorganismos que participan en su función fisiológica y en el entrenamiento del sistema inmune innato, además de vincularse con el desarrollo de diversas patologías pulmonares (Erb-Downward *et al.*, 2011; Charlson *et al.*, 2011a).

El pulmón es un órgano vulnerable a la infección debido a que es una vía de intercambio y comunicación entre el medio externo y el medio interno, lo que lo expone constantemente a partículas, productos químicos y organismos infecciosos en el aire (FIRS, 2017). De esta forma no es de extrañar que las enfermedades respiratorias imponen una inmensa carga sanitaria a nivel mundial. Cinco enfermedades respiratorias destacan entre las causas más comunes de muerte en todo el mundo: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC), Asma, Infecciones agudas del tracto respiratorio inferior, Tuberculosis y Cáncer Pulmonar (GBD, 2015: OMS, 2019).

La tuberculosis (TB) es una enfermedad contagiosa de transmisión por vía aérea, producida por *Mycobacterium tuberculosis* (Castiñeira *et al.*, 2002; Paneque *et al.*, 2018; Namasivayam *et al.*, 2020). La TB es una de las principales causas de morbilidad (163.67 AVAD por 100 000) (GBD, 2019), la novena causa de muerte a nivel mundial y la principal debida a un solo agente infeccioso (por encima del VIH/sida) (OMS, 2019) (esto antes de la pandemia del SARS CoV2 del 2019).

La TB generalmente afecta a los pulmones (tuberculosis pulmonar) aunque puede extenderse por vía hemolinfática a otros órganos y sistemas, incluyendo ganglios linfáticos, pleura, aparato genitourinario, huesos y articulaciones, meninges, peritoneo, pericardio, riñones, laringe y faringe (Morán y Lazo, 2001; Alcalá *et al.*, 2010; Palma, 2017).

Diversos estudios de enfermos con TB pulmonar han reportado cambios en la microbiota del esputo (Clemente *et al.*, 2012; Cui *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2013; Cheung *et al.*, 2013; Botero *et al.*, 2014; Krishna *et al.*, 2016; Sala *et al.*, 2020), encontrando que dichos cambios influyen no sólo en la salud del hospedador, sino también, que contribuyen al desarrollo de la enfermedad (Sekirov y Finlay, 2009; Sommer *et al.*, 2009; Wilks y Golovkina, 2012).

En sujetos sanos, los filos que predominan en el pulmón son: *Bacteroides*, *Firmicutes* y *Proteobacteria* a nivel género predominan *Streptococcus*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Veillonella* y *Pseudomonas* (Huang y Lynch, 2011), en menor medida se hallan *Haemophilus* y *Neisseria* (Beck *et al.*, 2012). En enfermos con Tuberculosis, los filos que predominan son también *Bacteroides* (con los géneros *Prevotella* y *Porphyromonas*), *Firmicutes* (con los géneros *Veillonella*, *Gemella*, *Granulicatella*, *Megasphaera*) y *Proteobacteria* (con los géneros *Neisseria*, *Moraxella*, *Haemophilus*) (Chávez-Arias, 2018).

En particular, los géneros *Prevotella*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Veillonela* cambian significativamente su abundancia relativa tanto incrementando como disminuyendo durante la enfermedad. Costa *et al.*, (2018), mencionan que algunos estados patológicos conducen a una pérdida de esta diversidad, con un aumento en la concentración de algunos géneros bacterianos a expensas de otros. Por ello, el objetivo del presente trabajo es caracterizar los géneros *Prevotella*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Veillonela* presentes en la microbiota pulmonar de pacientes sanos y enfermos con tuberculosis con el fin de comprender la relación intrínseca de la microbiota en los pulmones y la posible disbiosis en relación con enfermedades como la Tuberculosis (TB).

CAPITULO I**I. MARCO TEÓRICO****Microbiota**

El término microbiota hace referencia a la comunidad de microorganismos: bacterias, hongos, arqueas y protozoarios (hay desacuerdo entre si incluir o no a los virus) residentes en un nicho ecológico determinado (Vidal-Granel, 2003; Icaza-Chávez, 2013; Hernández y Bobadilla, 2017; Marchesi y Ravel, 2015; Budden *et al.*, 2019), que a su vez pueden diferenciarse en comensales, mutualistas y patógenos. Estos son indispensables para el crecimiento corporal, el entrenamiento y desarrollo de la inmunidad, la nutrición y los procesos de salud-enfermedad (Icaza-Chávez, 2013). A este conjunto formado por microorganismos, genes y metabolitos se le denomina *microbioma*.

Microbioma

El término microbioma fue sugerido por primera vez por Whipps *et al.*, en 1988 mientras trabajaban en estudios de ecología de los microorganismos de la rizosfera en donde definieron al microbioma como una "comunidad microbiana característica en un hábitat razonablemente bien definido que presentaban un "escenario de actividad" (Berg *et al.*, 2020). Posteriormente Joshua Lederberg Premio Nobel de Fisiología en 1958 popularizo el termino y lo definió como la comunidad de microorganismos simbióticos, comensales y patógenos dentro de un mismo, cuerpo, espacio u otro entorno (Prescott, 2017; Dickson, 2016).

Thomas *et al.*, (2017) sugieren que el término microbioma se refiere a la colección de genomas de los microorganismos comensales, simbióticos y patógenos que conviven dentro de un organismo (microbiota); y señalan, que el huésped junto con su microbioma constituye el holobionte, y la totalidad del genoma constituye el hologenoma.

Microbioma humano

Se llama microbioma humano a la comunidad de microorganismos que colonizan y viven en el cuerpo (Chávez-Arias, 2018).

El microbioma humano es un ecosistema interno constituido por las células humanas y los microorganismos que en él conviven. Más de $3.8 \cdot 10^{13}$ microbios coexisten con las $3.0 \cdot 10^{13}$ células del organismo humano. Estos microorganismos generalmente no son perjudiciales para el hombre, sino que son esenciales para mantener su salud, ya que son necesarios para la digestión de los alimentos, la síntesis de nutrientes, la prevención de enfermedades (pues junto con el sistema inmunológico, protegen frente a patógenos invasores y mantienen su salud) etc. (Chávez-Arias, 2018).

Debido a su enorme capacidad metabólica el microbioma es considerada un “órgano” imprescindible para la vida y con fuerte influencia en la salud y la enfermedad (Fundación Instituto Roche, 2018).

Factores que influyen en la composición del microbioma

En cualquier ser vivo, el microbioma no se mantiene constante a lo largo de la vida, ni es igual en todos los individuos. El microbioma presenta particularidades y características propias inherentes a cada individuo, pudiendo variar en función de la base genética, la dieta, etnia, edad, estado de salud y la interacción con el medio ambiente (**Fig.1**) (Chávez-Arias, 2018; Fundación Instituto Roche, 2018).

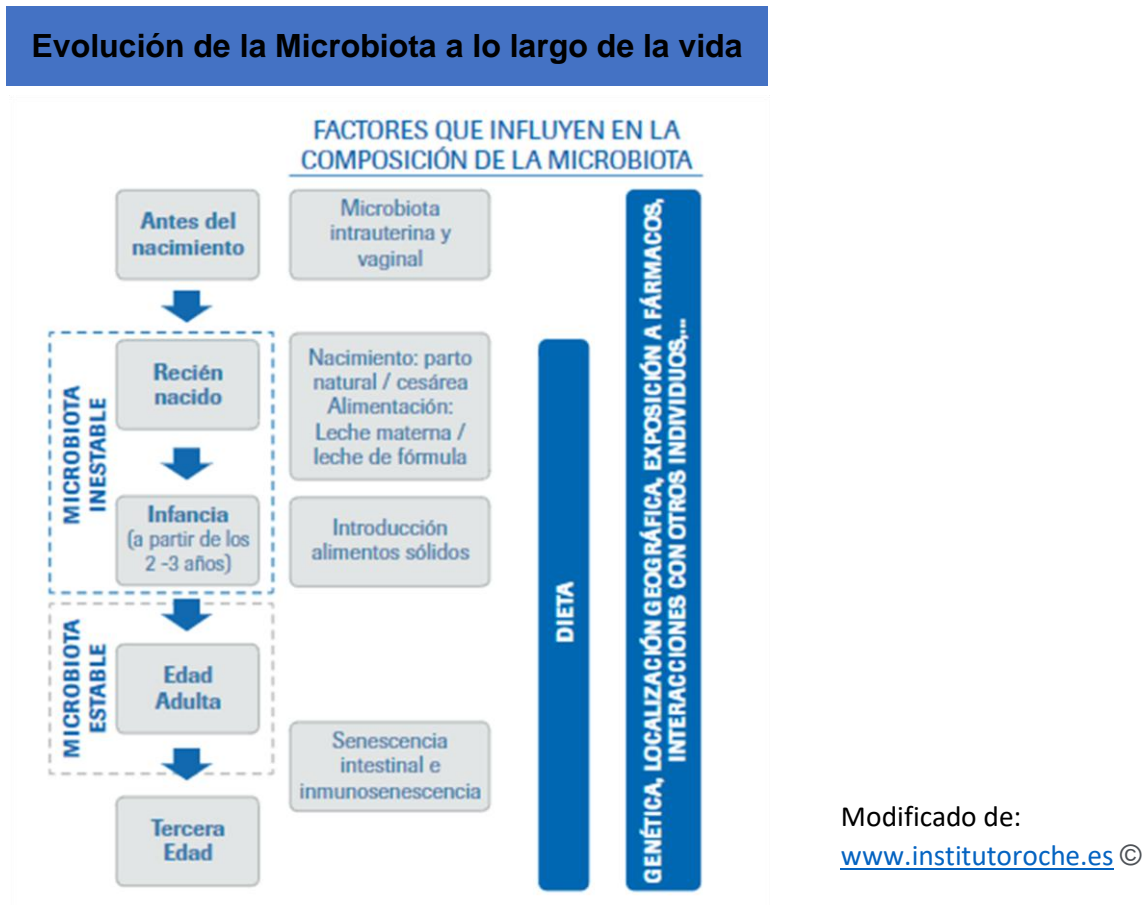


Figura 1. Factores que influyen en la composición de la microbiota a lo largo de la vida.

Asimismo, hay que recalcar que factores fisiológicos, como temperatura, humedad, o la presencia de nutrientes, entre otros, favorecen el desarrollo de diversas comunidades bacterianas (Suárez, 2017).

Localización del microbioma en el cuerpo humano

Las diferentes partes del cuerpo humano, como la piel, las mucosas, el tracto respiratorio, la vagina o el tracto digestivo albergan ecosistemas microbianos complejos y adaptados a las particularidades de cada nicho (**Fig. 2**) (Moreno *et al.*, 2018). De todos ellos, el más complejo, diverso y numeroso es el asociado al aparato digestivo (alberga más de 1.000 especies bacterianas diferentes), particularmente en el ciego donde la densidad de microorganismos es la más diversa (10^{12} - 10^{14}) (Icaza-Chávez, 2013; Fundación Instituto Roche, 2018).

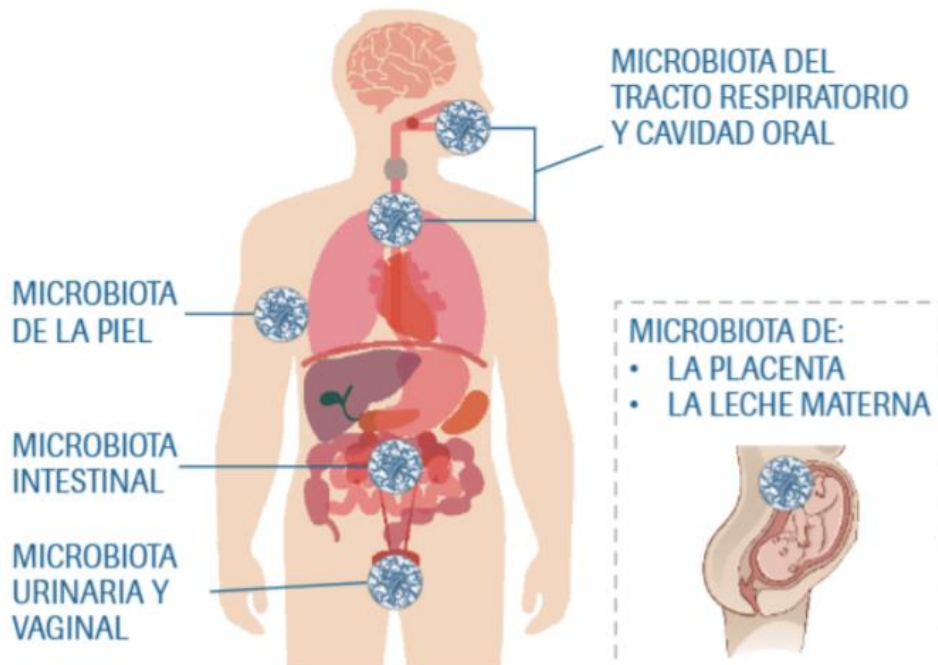


Figura 2. Localización de las microbiotas humanas (Modificado de: www.institutoroche.es ©).

Así pues, podemos hablar de microbioma de manera global o particular dependiendo de su localización concreta.

Papel funcional e importancia en el individuo

El microbioma es considerado como un “órgano” imprescindible para la vida por su influencia en el proceso salud-enfermedad del individuo (Alarcón *et al.*, 2016).

En estudios recientes, se ha encontrado que las comunidades microbianas presentan un comportamiento simbiótico y mutualista con las células eucariotas humanas (Moreno *et al.*, 2018). El desequilibrio en la relación entre el sistema inmune y la microbiota puede desencadenar un proceso patológico. Por ejemplo, la producción de metabolitos tóxicos, una respuesta inmune exagerada ante estímulos bacterianos o la inflamación intestinal sostenida son algunos de los elementos clave en la aparición y desarrollo de enfermedades como la Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII), el cáncer colorrectal, la obesidad y la diabetes tipo 2 (Valero *et al.*, 2015; Muñoz-Garach *et al.*, 2016).

Esto es, la microbiota desempeña un papel fundamental en el funcionamiento del individuo y a continuación se refieren sólo algunas de las funciones principales, en las que interviene:

1. Digestión.

- a) Fermenta la fibra dietética transformándola principalmente en azúcares simples y ácidos grasos de cadena corta (AGCC), con ello, se consigue un mayor aprovechamiento de la energía procedente de los alimentos (se estima que aproximadamente un 10% de las calorías absorbidas provienen diariamente de este proceso) (Morales *et al.*, 2010).
- b) Sintetiza vitaminas esenciales como la vitamina K, B12, Biotina (producida por *Bacteroidetes*), ácido fólico, tiamina (sintetizada por *Prevotella*), etc. y neurotransmisores (Enders, 2015).

- c) Participa en las vías metabólicas, el metabolismo de carbono, la síntesis de aminoácidos, y en los importantes complejos proteicos ARN y ADN polimerasa y ATP sintetasa responsables de la síntesis de proteínas (Valero *et al.*, 2015).
- d) Participa en la recirculación y el metabolismo de los ácidos biliares.
- e) Regula el gasto de energía evitando su pérdida por polisacáridos no digeribles, estimula receptores de ácidos grasos libres acoplados a proteína G en la mucosa del colon (Valero *et al.*, 2015).

2. Metabolismo de toxinas o carcinógenos

- a) Transforma carcinógenos potenciales como las aminas heterocíclicas (Ruiz *et al.*, 2010).
- b) Activa distintos compuestos bioactivos como los fitoestrógenos y participa en la síntesis de aminoácidos como lisina y treonina (Mathur y Barlow, 2015).

3. Comunicación

- a) Se produce a través de tres vías: el nervio vago, la vía sistémica (mediante la liberación de hormonas, metabolitos y neurotransmisores) y el sistema inmune (por la acción de las citocinas) (Gómez *et al.*, 2019).

4. Modulación y entrenamiento del sistema inmunitario

- a) Interactúa fisiológica y patológicamente con el hospedador regulando el sistema inmune sistémico (Valero *et al.*, 2015).
- b) Protege al organismo frente a patógenos compitiendo con ellos por el nicho y generando compuestos antibióticos (Ruiz *et al.*, 2010).
- c) Genera memoria inmunológica; propiedad a través de la cual, después de contactar un antígeno por primera vez, el organismo adquiere la capacidad de responder mejor y más rápidamente ante la reexposición al mismo antígeno (Ruiz *et al.*, 2010; Borrueal, 2003; Sebastián-Domingo y Sánchez-Sánchez, 2018).
- d) Remodela constantemente los mecanismos locales y sistémicos de la inmunidad, adaptándolos al ambiente microbiano (Borrueal, 2003).
- e) Participa en mecanismos de protección de la mucosa, además de ser uno de los principales efectores de la comunicación entre microbiota y hospedero a través de metabolitos de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (Ruiz *et al.*, 2010)

Papel del microbioma en el equilibrio salud-enfermedad.

La exposición a microorganismos desde el nacimiento origina la conformación del microbioma a lo largo de la infancia desarrollando un sistema inmunitario activo adaptado al medio ambiente. Esto es necesario para evitar algunas enfermedades inmunológicas a lo largo de la vida. El microbioma presente en los humanos educa al sistema inmune, induce inmunidad adaptativa e inicia linfocitos B y T de memoria, esenciales para combatir a microorganismos patógenos o potencialmente patógenos (Thomas *et al.*, 2017).

Microbioma Respiratorio

Se refiere a la microbiota respiratoria, es decir, al conjunto de microbios, virus, bacterias, parásitos y arqueas que están presentes en el árbol respiratorio y que no siempre causan una patología, sino que en muchos casos tienen una función protectora.

Principales géneros residentes del microbioma pulmonar

En diversos estudios, se ha encontrado que la composición de la microbiota pulmonar, lejos de ser uniforme, varía mucho entre las vías aéreas superiores (nariz, boca) y las vías aéreas inferiores (pulmones, bronquios, etc.) (Charlson *et al.*, 2011a; Charlson *et al.*, 2012b).

En general, un sujeto “normalmente sano” contiene una microbiota filogenéticamente diversa en el árbol broncopulmonar, con *Firmicutes*, *Bacteroides* y *Proteobacteria* como sus filos dominantes, y una abundancia baja de Unidades Taxonómicas Operacionales (OTUs) correspondientes a microorganismos potencialmente patógenos como los del género *Haemophilus* (Erb-Downward *et al.*, 2011; Charlson *et al.*, 2011a; Charlson *et al.*, 2012c).

El microbioma y las enfermedades respiratorias

Como decíamos anteriormente, estudios recientes han demostrado que la microbiota pulmonar está asociada con enfermedades respiratorias incluyendo: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC), Asma, Infecciones agudas del tracto respiratorio inferior, Tuberculosis y Cáncer Pulmonar; en las que se han encontrado diferencias en las abundancias de las poblaciones microbianas presentes durante la enfermedad.

Por ejemplo, individuos con EPOC tienen un microbioma pulmonar alterado en el que bacilos gramnegativos constituyen el componente dominante (Martínez-Aguilar *et al.*, 2017). En contraste, otros estudios señalan que la prevalencia y desarrollo del Asma esta correlacionada con una alteración de la conformación a nivel filo de la microbiota de las vías respiratorias, además de la predisposición genética, la exposición a alérgenos ambientales, la contaminación del aire en interiores y la infección del tracto respiratorio inferior (Rivero, 2017; FIRS, 2017; Gracia, 2018; Molina y Valverde-Fuentes, 2019)

Como tal, se ha demostrado que la diversidad y abundancia de los géneros bacterianos tienen un impacto en el desarrollo de la enfermedad, sin embargo, hay pocos estudios que tratan de enfermedades respiratorias y no todos son comparables (Bisen, 2015).

Tuberculosis

- **El microbioma en el nicho alveolar pulmonar y su papel en la infección por *Mycobacterium tuberculosis***

La Tuberculosis es una enfermedad infecto–contagiosa, causada por *Mycobacterium tuberculosis* que pertenece al orden *Actinomycetales* y la familia *Mycobacteriaceae*. Es parte del complejo *M. tuberculosis*, el cual se compone por *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* (CENAPRECE, 2017).

La tuberculosis pulmonar causada por *M. tuberculosis* es la forma más frecuente, de la enfermedad, observándose en más del 69% de los casos. Es la única forma de tuberculosis que puede ser contagiosa. El mecanismo más frecuente de transmisión es la vía aérea (al toser o estornudar) por medio de las gotas de “flügge” que emite una persona enferma con tuberculosis a otra persona sana expuesta de manera cercana y que cuenta con susceptibilidad para enfermarse (Chavez-Arias, 2018).

Después de la infección por *M. tuberculosis*, pueden suceder tres cosas, 1) que el sistema inmune de la persona combata las bacterias para impedir que se multipliquen y eliminen el bacilo, 2) que la persona contenga el bacilo, pero no manifiesta la enfermedad (entra en estado de latencia, LTBI) y 3) que la persona desarrolle la enfermedad.

Dentro de las personas con Tuberculosis latente la enfermedad se puede desarrollar cuando el sistema inmunológico se encuentra disminuido por efectos del VIH, u otras enfermedades. Las bacterias de *Mycobacterium tuberculosis* que permanecían en estado latente en el organismo comienzan a multiplicarse y desarrollan la tuberculosis (Adami y Cervantes, 2015).

Caracterización del microbioma

La caracterización de la microbiota puede ser identificada usando tanto métodos de cultivo como moleculares (García-Mazcorro, *et al.*, 2015).

Durante mucho tiempo y tradicionalmente, la caracterización del microbioma se realizó a través del cultivo de los microorganismos y se identificó mediante pruebas fenotípicas clásicas: morfológicas, fisiológicas y bioquímicas (Muñoz-Garach *et al.*, 2016).

Sin embargo, la mayoría de las comunidades microbianas no se logran cultivar ni identificar efectivamente, es por ello que en las últimas décadas se han utilizado técnicas de secuenciación masiva para obtener información genética precisa e identificar con exactitud microorganismos asociados a enfermedades (García-Mazcorro, *et al.*, 2015).

Esta nueva aplicación de la biología molecular identifica el microbioma en una muestra biológica, a partir de la extracción, amplificación y secuenciación de los genes que codifican para la subunidad 16S del ARN ribosomal cuya estructura y función ha permanecido constante a lo largo del tiempo (Olsen y Woese, 1993; Moya, 2017), por lo cual la subunidad 16S del ARN ribosomal es considerada como la diana universal y un reloj evolutivo para la identificación bacteriana a partir de la secuenciación de ADN (Rodicio y Mendoza, 2014; Krishnan *et al.*, 2017).

Secuenciación

ADN es el nombre químico de la molécula que contiene la información genética en todos los seres vivos. La molécula de ADN consiste en dos cadenas que se enrollan entre ellas para formar una estructura de doble hélice. Cada cadena tiene una parte central formada por azúcares (desoxirribosa) y grupos fosfato. Unido a cada azúcar hay una de las siguientes 4 bases: adenina (A), citosina (C), guanina (G), y timina (T). La adenina se enlaza con la timina, y la citosina con la guanina. La secuencia de estas bases a lo largo de la cadena es lo que codifica las instrucciones para formar proteínas y moléculas de ARN (Madigan *et al.*, 2016).

Por tanto, secuenciar indica determinar el orden exacto de los pares de bases en un segmento de ADN.

Métodos de Secuenciación

A. Método de degradación química (Maxam y Gilbert, 1977)

Desarrollado por Allan Maxam y Walter Gilbert en 1977, fue el primer método de secuenciación de ADN; se trataba de un método químico que sometía la molécula de DNA a distintos métodos de ruptura.

En este método, un fragmento de ADN de cadena doble o sencilla se marca en los extremos 5' o 3' de una o ambas hebras con ^{32}P (Fosforo radioactivo). Después, la muestra de ADN se divide en cuatro alícuotas y se fragmenta en cuatro reacciones químicas distintas. Los fragmentos de ADN generados se separan por electroforesis en cuatro carriles distintos con base en su tamaño.

Conociendo el nucleótido en el que se realizan los cortes, se puede inferir la secuencia de la molécula original (**Fig. 3**) (De Necochea y Canul, 2004).

Las reacciones químicas que se utilizan para fragmentar la molécula de ADN son las siguientes:

1. Corte de las purinas. Las purinas adenina y guanina se metilan con dimetil sulfato ($(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$). Después, la reacción se trata en condiciones alcalinas; la molécula de ADN se fragmenta en las purinas metiladas. Como resultado, se obtiene una serie de bandas oscuras que corresponden a las guaninas (las cuales se metilan 5 veces más rápido), y bandas claras que corresponden a las adeninas.
2. Corte de pirimidinas. Esta reacción utiliza el reactivo hidracina (N_2H_4), que corta las bases citosina y timina. Posteriormente, se trata con piperidina ($\text{C}_9\text{H}_{18}\text{N}_2$) para completar la reacción.
3. Corte de adeninas. Esta reacción es una variación de la anterior. Las purinas metiladas se tratan inicialmente con un ácido diluido. Esto favorece el corte de las adeninas metiladas. Después de un tratamiento alcalino las guaninas también son cortadas. Este tratamiento genera una serie de bandas oscuras y claras que también corresponden a las adeninas, y las guaninas, respectivamente.
4. Corte de citosina. La presencia de NaCl 2M inhibe la reacción de hidracina con tiamina, y el tratamiento posterior con piperidina, produce solamente fragmentos que terminan en citosina

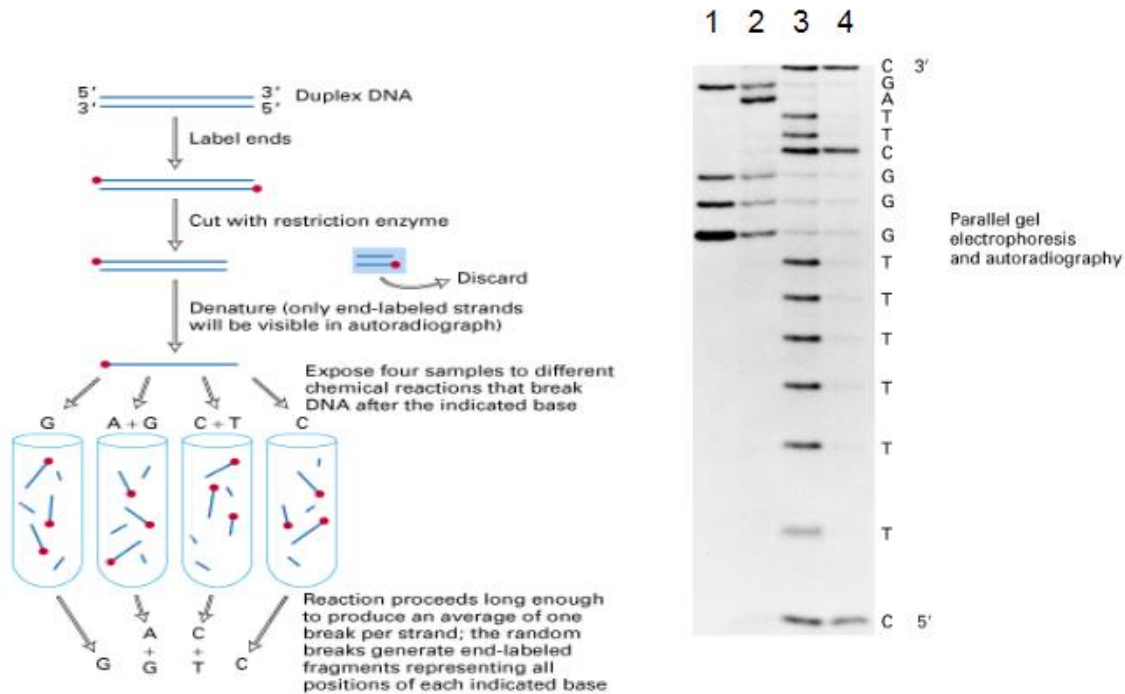


Figura 3. Proceso del método de Maxam y Gilbert (1977) para secuenciar ADN. Los números de los carriles en el gel corresponden a los distintos tipos de corte que se describen en el texto (Modificado de © De Necochea y Canul, 2004).

Las ventajas de este método es que en su momento fue el más adecuado para determinar la secuencia de fragmentos cortos de ADN, debido a que podía determinar la secuencia desde la primera base (bajo margen de errores), además de que se obtenía una auto radiografía en donde podía leerse la secuencia (Bautista, 2010).

Sin embargo, la auto radiografía era de baja resolución debido a que los geles de acrilamida presentaban limitantes afectando la resolución de las bandas obtenidas en el gel. Asimismo, secuenciar en geles de acrilamida era complicado, ya que no se podían separar y analizar individualmente las hebras del ADN y mucho menos secuenciar fragmentos grandes. La secuenciación tardaba un día y el máximo que se podía secuenciar eran 250 nucleótidos (De Necochea y Canul, 2004; Márquez-Valdelamar *et al.*, 2013).

B. Método Enzimático: dideoxi o secuenciación por terminación de la cadena (Sanger, 1977)

Diseñado por Fred Sanger, es el segundo método de secuenciación de ADN propuesto en 1977. Es un método enzimático que permite determinar la secuencia del molde a medida que se sintetiza su hebra complementaria.

El método de Sanger se basa en el uso de la ADN polimerasa para sintetizar cadenas de ADN con una terminación específica. Con este método se generan fragmentos de ADN de todos los tamaños posibles que se pueden distinguir entre sí, por el tipo de marcaje que llevan o por la incorporación de un terminador específico.

Las enzimas del tipo de la ADN polimerasa requieren de un templado de ADN de cadena sencilla, y realizan la síntesis de la hebra complementaria extendiéndola a partir de un iniciador en dirección 5' a 3'. Entre los componentes de la reacción se incluyen nucleótidos que no tienen un grupo hidroxilo en su extremo 3' (ddNTP), para poder obtener una terminación específica en las cadenas. Una vez que el ddNTP se incorpora, evita que la cadena de ADN sintetizada continúe extendiéndose, se convierte en el residuo terminal y marcado. La incorporación de los ddNTPs es al azar, de tal forma que se obtienen fragmentos de todos los tamaños posibles que terminan en un residuo específico.

En este método la estrategia es hacer cuatro reacciones diferentes de síntesis de ADN, utilizando un ddNTP distinto en cada tubo. Con la mezcla del nucleótido normal (dNTP) y su terminador (ddNTP), se pueden generar fragmentos complementarios de diferentes tamaños que terminan en el mismo nucleótido. Después, estos fragmentos se pueden separar en un gel de electroforesis con cuatro carriles distintos, para determinar la secuencia del templado (**Fig. 4**).

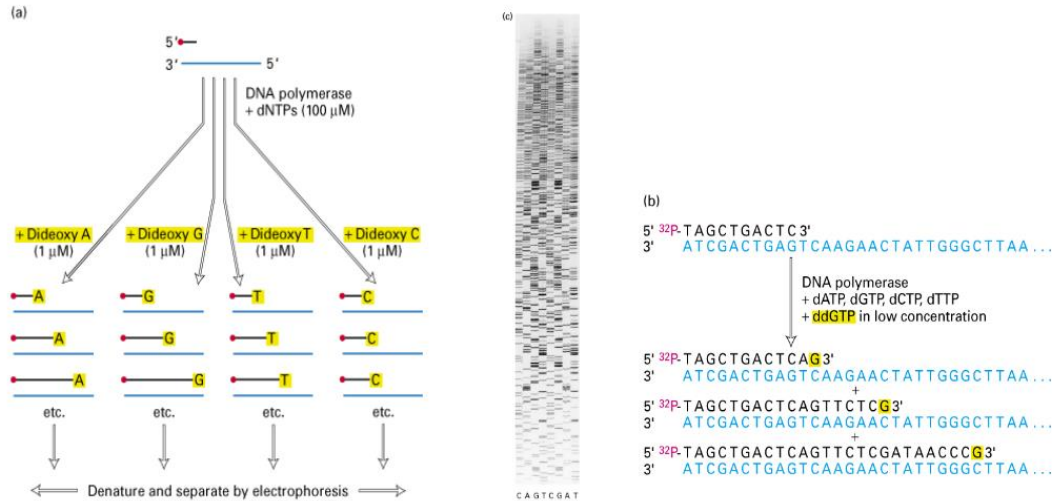


Figura 4. Método de Sanger. Proceso: a) Cuatro reacciones con ddNTPs diferentes permiten la síntesis de distintos fragmentos con una terminación específica, estos fragmentos se pueden separar por electroforesis, b) comparando los tamaños, se puede determinar la secuencia del templado, c) Auto radiografía de la secuenciación en gel de poliacrilamida (Modificado de © De Necochea y Canul, 2004).

La ventaja de este método es que permite determinar la secuencia de moléculas de ADN de hasta 800 nucleótidos de longitud por medio de reacciones más puras (en comparación con el método de Maxam y Gilbert) que no afectan la resolución del gel. Realiza la secuencia en un tiempo menor a 24 hrs. (Bautista, 2010).

Anteriormente los didesoxirribonucleótidos trifosfato (ddATP, ddGTP, ddCTP y ddTTP) que se utilizaban no estaban disponibles comercialmente, lo cual suponía una desventaja. Actualmente la desventaja es que presenta una tasa de errores en la parte inicial y final de la cadena (Márquez-Valdelamar *et al.*, 2013; Madigan *et al.*, 2016).

Aunque el método de Maxam y Gilbert permitía secuenciar el ADN original y detectar modificaciones en el mismo, el método de Sanger es el que terminó imponiéndose (en su momento) por su sencillez, precisión y rapidez (Bautista, 2010).

Pero no fue hasta décadas más tarde que se desarrolló la secuenciación de segunda generación, o de alto rendimiento capaz de generar cientos de miles de reacciones de secuencias de manera más rápida y económica (Jauk, 2019).

Con la utilización de genes de referencia considerados “relojes moleculares” como los genes ARNr 16S (bacterias) y ARNr 18S (Hongos), las técnicas de secuenciación masiva y las herramientas bioinformáticas para el tratamiento de datos, se ha podido secuenciar no sólo microbioma humano, sino también genomas completos de diferentes reinos e incluso, identificar miles de especies antes desconocidas en hábitats extremos y en otros más comunes como son los mares (Helmreich, 2005).

Secuenciación de Nueva Generación o de alto rendimiento

La secuenciación de nueva generación (NGS, por sus siglas en inglés) se refiere a una nueva y rápida maneras de secuenciar el ADN y el ARN con un nivel de detalle sin precedente en cuanto a taxonomía y función de los microorganismos, lo que ha supuesto una auténtica revolución no solo en su conocimiento sino también en su implicación en la salud y enfermedad del ser humano (Moya, 2017; Escalante *et al.*, 2014).

La NGS, también llamada "secuenciación de alto rendimiento," es una colección de técnicas de secuenciación genética que mejoran el proceso de secuenciación original de Sanger, además de reducir los costes y el tiempo para la secuenciación de ADN y ARN (Moya, 2017; Petrini, 2006).

Dentro de la NGS existen 4 plataformas disponibles para secuenciación masiva:

- Secuenciación por síntesis:
 - PCR en emulsión (Roche, SOLiD)
 - PCR en puente (illumina)
- Secuenciación por semiconducción: (Ion-Torrent).

Illumina

Es una plataforma de secuenciación que adapta la familia de secuenciadores Solexa, incorporando progresivamente una serie de instrumentos como MiSeq, HiSeq y NextSeq (Krishnan *et al.*, 2017).

Aplica un método basado en la síntesis del ADN, donde la incorporación de un nucleótido marcado con fluorescencia y protegido en la cadena naciente impide que ésta siga creciendo, después de detectar la señal fluorescente se elimina el grupo protector pudiéndose incorporar otro nucleótido marcado e iniciar un nuevo ciclo. Es una técnica muy poderosa en cuanto a información generada y coste (McCormack *et al.*, 2013; Caporaso *et al.*, 2011).

Los avances en la tecnología de secuenciación de próxima generación (NGS) han proporcionado las herramientas para caracterizar de manera exhaustiva y precisa las comunidades microbianas.

CAPITULO II**I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Hasta hace relativamente poco tiempo, el pulmón había recibido menos atención en comparación con otros sitios corporales en términos de caracterización de su microbioma, probablemente por la falsa idea de que los pulmones eran sitios estériles y por la dificultad en la obtención de muestras representativas para su estudio.

Sin embargo, en los últimos años se ha incursionado en el conocimiento del microbioma respiratorio, numerosos trabajos evidencian que la presencia de bacterias comensales y patógenas tienen importantes efectos sobre el sistema inmune pulmonar. El análisis de la microbiota ha constituido una nueva aproximación conceptual a la complejidad de las poblaciones microbianas y sus relaciones, con importantes datos sobre su papel en la inmunidad y en la susceptibilidad a enfermedades en el huésped. Se le ha implicado en múltiples enfermedades respiratorias como: Asma, Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) e Infecciones agudas del tracto respiratorio inferior; dónde se han encontrado alteraciones en la microbiota que sugieren elementos de intervención e innovación con nuevas expectativas en la prevención y el tratamiento de dichas enfermedades.

En medio de la complejidad del sistema inmune alveolar, y sus interacciones con el microbioma pulmonar, se encuentra *Mycobacterium tuberculosis*, uno de los enemigos más antiguos de la humanidad y un importante problema de salud pública, con millones de personas infectadas con *Mycobacterium tuberculosis* en todo el mundo.

Las intrincadas interacciones entre *Mycobacterium tuberculosis*, el microbioma pulmonar y el sistema inmunitario alveolar están comenzando a ser comprendidas, y es cada vez más evidente que el tratamiento mejorado de TB sólo llegará a través de la comprensión profunda de la interacción entre estas tres fuerzas.

Por ello, se hace necesario conocer con mayor certeza el papel que juega la microbiota del pulmón en esta enfermedad.

En ese sentido, esta investigación busca caracterizar los géneros *Prevotella*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Veillonella* identificados en la microbiota pulmonar a través de técnicas de secuenciación del gen ARNr 16S con el fin de comprender la relación intrínseca de la microbiota en los pulmones con estos géneros y la posible disbiosis en relación con la enfermedad.

II. HIPÓTESIS

H₁: La composición microbiana de los géneros *Prevotella*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Veillonella* se ve influenciada por otros géneros presentes en el microbioma pulmonar, lo cual se verá reflejado en sus co-habitancias y exclusiones.

III. OBJETIVOS

General

- Caracterización de los géneros *Prevotella*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Veillonella* presentes en la microbiota pulmonar de pacientes sanos y enfermos con tuberculosis del Instituto Nacional De Enfermedades Respiratorias (INER), Cd. de México.

Particulares

- Caracterizar los géneros bacterianos: *Prevotella*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Veillonella* a partir de su presencia en muestras de esputo de pacientes sanos y enfermos con TBC.
- Identificar y determinar las relaciones intra e interespecíficas de los géneros bacterianos: *Prevotella*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Veillonella* con otros géneros presentes en el microbioma pulmonar.
- Proponer que factores son propensos a modificar el equilibrio de la microbiota pulmonar en pacientes enfermos de Tuberculosis.

CAPITULO III

I. MATERIALES Y MÉTODOS

A. *Obtención de datos*

Se realizó una búsqueda bibliográfica que incluyó la recopilación de información de fuentes primarias (Libros de texto, Enciclopedias, Manuales, Atlas Bacteriologico, etc.), fuentes secundarias y terciarias (bases de datos electrónicas como MEDLINE, INDEX MEDICUS, LILACS, EMBASE, BidiUAM, WOS, GBD, ACP Journal Club, entre otras) para la compilación, discriminación y selección de la información.

Asimismo, se consultaron sitios electrónicos como Global Burden of Disease (GBD 2019) del Instituto de Métricas y Evaluación de la Salud y el repositorio de datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2019) para referir los niveles y tendencias epidemiológicas.

B. *Procesamiento de datos*

Se realizó una base de datos en el programa Microsoft Office Excel 2019 en la que se colocó información relacionada a la abundancia relativa a nivel género y filo de la microbiota de esputo de enfermos con tuberculosis.

En el caso de aquellos estudios que incluían la comparativa de las abundancias relativas con un grupo control se utilizó una simbología (\approx Similar, \uparrow Mas abundante, \downarrow Menos abundante, C Común, R Raro, eTB Exclusivo de enfermos de tuberculosis, ND No disponible) para determinar cualitativamente dichas abundancias, esto debido a que, en la mayoría de los casos, los datos no se encontraron disponibles cuantitativamente.

C. Análisis de los resultados

Con la información seleccionada del análisis bibliográfico 1) se caracterizaron los géneros bacterianos: *Prevotella*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Veillonella*, y 2) se identificaron los factores propensos a modificar el equilibrio de la microbiota pulmonar en pacientes enfermos de Tuberculosis.

Con la información de la base de datos se determinaron las relaciones interespecíficas de los géneros bacterianos: *Prevotella*, *Neisseria*, *Moraxella* y *Veillonella* con otros géneros presentes en el microbioma pulmonar, en este caso, la caracterización también ayudo a inferir en las relaciones interespecíficas.

Durante esta estancia, se realizaron reuniones de discusión vía remota sobre diferentes artículos científicos, además se colabora actualmente en la realización de un artículo de revisión científico para su publicación.

CAPITULO IV

I. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. CARACTERIZACIÓN DE LOS GÉNEROS BACTERIANOS: *PREVOTELLA, NEISSERIA, MORAXELLA Y VEILLONELA*

Género *Prevotella*

Taxonomía

Dominio: *Bacteria*

Filo: *Bacteroidetes*

Clase: *Bacteroidia*

Orden: *Bacteroidales*

Familia: *Bacteroidaceae*

Género: *Prevotella*

Fuente: Bergey's Manual® (2012)

Generalidades

El género bacteriano *Prevotella* contiene casi 50 especies. Fue nombrado en la década de 1920 por el pionero en microbiología francesa A. R. Prévot (Prevot, 1938 en Bergey's Manual, 2012).

Las especies que conforman este grupo bacteriano, anteriormente estuvieron clasificadas dentro del Género *Bacteroides*. Sin embargo, con la secuenciación del ARNr 16S se confirmó la heterogeneidad entre ambos grupos bacterianos y sus marcadas diferencias en características fundamentales (Shah y Collins, 1990; Slots y Taubma, 1992; Brenner *et al.*, 2012) como son morfología, respiración, metabolismo de hidratos de carbono, reproducción, locomoción y tipo de huésped.

Las especies del género *Bacteroides* son bacilos anaerobios, asacarolíticos, que producen endosporas para reproducirse, pueden ser móviles e inmóviles. Se encuentran en humanos y otros mamíferos (Quesada, 2010; Pérez, 2015). Por el contrario, las especies de *Prevotella* tienen formas pleomórficas de Cocobacilos y bacilos, son anaerobios estrictos, sacarolíticos, no esporulados, inmóviles, con capacidad de producir pigmentos de color marrón o negro y forman parte de la microbiota humana principalmente y de la microbiota animal.

Prevotella es uno de los géneros con mayor interés clínico debido a que contiene especies con importancia médica (Briceño *et al.*, 2009; Sakamoto *et al.*, 2010; Lopardo *et al.*, 2016)

Especies

Se han descrito cuarenta y nueve especies que infectan humanos y animales; dentro de las especies encontradas con mayor frecuencia en infecciones humanas destacan: *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella bivia*, *Prevotella disiens*, *Prevotella buccae*, *Prevotella denticola*, *Prevotella oris* y *Prevotella salivae* (Bittar *et al.*, 2008; Ulrich *et al.*, 2010; Lopardo *et al.*, 2016).

Morfología

Las especies de este género son bacterias con forma de cocobacilos y bacilos pleomórficos, generalmente de 0,4 µm por 0,6 a 1 µm de longitud, inmóviles, no esporulados y anaerobios estrictos (Rodríguez, 2012; García-Sánchez, 2015).

Algunas especies son capaces de producir pigmentos de color marrón o negro, por lo cual se clasifican en pigmentadas (*P. melaninogenica*, *P. intermedia*, *P. corporis*, *P. loescheii* y *P. nigrescens*) y no pigmentadas (*P. bivia*, *P. oralis*, *P. ruminicola*, *P. buccalis* y *P. buccae*) (Guilarte y Perrone, 2005; Briceño *et al.*, 2009; Lopardo *et al.*, 2016); el pigmento tiene la función de remover el oxígeno superficial, permitiéndoles co-habitar en ambientes con presencia de O₂ (Lopardo *et al.*, 2016).

Metabolismo

Prevotella comprende bacterias moderadamente sacarolíticas que catabolizan la glucosa por la vía de Embden-Meyerhof-Parnas (Glucólisis), aunque no metabolizan los carbohidratos por la ruta de las Pentosas-fosfato, ya que carecen de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y gluconato-6-fosfato-deshidrogenasa.

Son especies moderadamente fermentativas y sensibles a la bilis (20%). Producen ácido acético y ácido succínico (García-Sánchez *et al.*, 2010).

Presentan resistencia antimicrobiana a la Vancomicina y β -lactamasa, dos de los principales antibióticos en el tratamiento de las enfermedades periodontales (Linares y Martin-Herrero, 2003).

Requieren Vitamina K, hemina y sangre para su crecimiento (Shah y Collins, 1990; Slots y Taubma, 1992; Guilarte y Perrone, 2005; García-Sánchez *et al.*, 2010; Chaiña, 2015).

Hábitat

En el hombre su hábitat principal es el surco gingival de la cavidad oral (*P. oris*, *P. bucae* y *P. oralis*.) (Sakamoto *et al.*, 2004; Downes *et al.*, 2008; Sakamoto *et al.*, 2009 en Lopardo *et al.*, 2016), seguido del tracto respiratorio (*Prevotella ruminicola*, *Prevotella oralis*), aunque también se pueden encontrar en el tracto urogenital (*P. bivia*, *Prevotella disiens*) y en menor medida en el intestino (*P. melaninogenica*) y colon (*Prevotella spp.*) (Chaiña, 2015; Lopardo *et al.*, 2016).

Cabe mencionar que, si bien las bacterias anaerobias son microorganismos que no pueden vivir en presencia de oxígeno, ya que resulta tóxico para ellas, *Prevotella* ha logrado colonizar la cavidad oral a través del proceso infeccioso relacionado con la acumulación de placa subgingival y cálculo dental.

Esto es, si la placa formada sobre la superficie del diente no es removida, las bacterias allí presentes se acumulan e inician una reacción inflamatoria en la encía; entonces, el establecimiento del proceso infeccioso provoca la disminución de la tensión de oxígeno molecular y en consecuencia del potencial de oxido-reducción,

con lo cual se favorece la supervivencia y crecimiento de la microbiota bacteriana anaeróbica de *Prevotella*, prevaleciendo ésta sobre la microbiota aeróbica y anaerobia facultativa (Guilarte, 2002).

A su vez, es posible encontrarla en el tracto respiratorio superior e inferior por 2 razones principales. Primero, porque la existencia de microorganismos de *Prevotella* a la vía aérea se produce ya intraútero a través de la placenta, y se modifica después con las distintas exposiciones a alimentos o el uso de antibióticos (García-Pachón, 2017).

Y segundo, por la higiene, pues se ha encontrado que en los casos de mala higiene buco-dental, especies de *Prevotella* aumentan y simultáneamente deterioran los mecanismos de defensa (alteraciones en el cierre glótico, alteraciones en el reflejo tusígeno y en la aclaración mucociliar) permitiendo así su co-habitancia, crecimiento y asociación en infecciones como: abscesos pulmonares y epiema pleural (Fernández *et al.*, n.d).

Es esta continuidad anatómica entre la cavidad oral y los pulmones la que hace posible una vía de transporte hacia el pulmón (Puchades, 2017). En varios estudios se ha demostrado que la microbiota pulmonar se parece a la microbiota orofaríngea, lo que permite afirmar que ésta es la fuente principal de adquisición de los gérmenes de la vía aérea inferior. Asimismo, las frecuentes microaspiraciones documentadas en individuos sanos y que son más frecuentes en diversas enfermedades, reflejan la microbiota de la boca y/o faringe, pero con cambios en el número de especies y por consiguiente cambios en los dominios de los *phylums* predominantes (Dickson *et al.*, 2015; Rivero, 2017). En síntesis la microbiota de la vía aérea inferior dependerá fundamentalmente de la microbiota de la orofaringe

La composición de la microbiota de la vía aérea inferior viene definida por tres factores: (1) la migración bacteriana al interior de la vía aérea, (2) la eliminación de las bacterias y (3) la reproducción de los distintos componentes bacterianos en el territorio en función de las características favorecedoras locales (Dickson *et al.*, 2016; García-Pachón, 2017).

Esta última característica es la que permite que anaerobios como *Prevotella* puedan establecerse y co-habitar en ambientes ricos en O₂, e igualmente se alude a características y mecanismos de virulencia (que se revisan más adelante) que presenta este género y que le permiten vivir en dicho nicho.

Infecciones asociadas al género *Prevotella*

Las bacterias del género *Prevotella* se asocian principalmente a infecciones periodontales, infecciones de los conductos radiculares y abscesos de origen dentario y periodontal (Liébana, 2002; Sakamoto *et al.*, 2002; Negroni, 2009), pero también pueden ocasionar amigdalitis aguda y crónica, sinusitis crónica e infección en tejidos (Llop *et al.*, 2001).

A su vez, *Prevotella* se ha relacionado con el desarrollo de abscesos cerebrales y pulmonares, neumonía aspirativa, empiema, enfermedad inflamatoria pélvica, abscesos tubo ováricos, entre otras (Lopardo *et al.*, 2016) (**Tabla 1**).

Tabla 1 Infecciones asociadas a la bacteria <i>Prevotella</i>	
Sistema asociado	Patógenos
Absceso cerebral	<i>Staphylococcus aureus</i> , especies de <i>Fusobacterium</i> , especies de <i>Peptostreptococcus</i> , otros cocos anaerobios, enterobacterias, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Streptococcus viridans</i> , especies de <i>Bacteroides</i> , especies de <i>Prevotella</i> , especies de <i>Porphyromonas</i> , especies de <i>Actinomyces</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , especies de <i>Nocardia</i> , <i>Rhodococcus equi</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> y otras especies.
Cavidad oral (Infección periodontal)	<i>Porphyromonas</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Prevotella oris</i> , <i>P. bucae</i> , <i>P. intermedia</i> , <i>P. oralis</i> .
	<i>Bacteroides ureolyticus</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Fusobacterium necrophorum</i> , <i>Porphyromonas</i>

Cabeza y cuello (Infección orofaríngea)	<i>asaccharolytica</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Prevotella intermedia</i> , <i>Prevotella melaninogenica</i> , <i>Veillonella párvula</i> .
Pulmón (Infecciones y abscesos pulmonares)	<i>Streptococcus milleri</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Fingoldia</i> , <i>Bacteriodes</i> spp., <i>Fusobacterium</i> spp., <i>Clostridium</i> , <i>Prevotella ruminicola</i> , <i>Prevotella oralis</i>
Empiema	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus</i> grupo A, <i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Prevotella</i> spp., <i>Klebsiella pneumoniae</i> y otras enterobacterias, especies de <i>Actinomyces</i> , especies de <i>Nocardia</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> y otras especies.
Intraabdominal	<i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> , <i>Prevotella melaninogenica</i> .
Ginecológica	<i>B. fragilis</i> , <i>Prevotella bivia</i> , <i>Prevotella disiens</i> , <i>Peptostreptococcus</i> ,
Piel y tejidos blandos	<i>B. fragilis</i> , especies de <i>Prevotella</i> .
Bacteriemia	<i>B. fragilis</i> , <i>B. thetaiotaomicron</i> , especies de <i>Fusobacterium</i> , especies de <i>Prevotella</i> .
Cólon	<i>Bacteroides</i> spp., <i>Prevotella</i> spp., <i>Eubacterium</i> spp., <i>Bifidobacterium</i> spp., <i>Clostridium</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Porphyromonas</i> spp., <i>Enterobacteriaceae</i> (principalmente <i>E. coli</i>), <i>Streptococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Klebsiella</i> spp., <i>Citrobacter</i> spp., <i>Proteus</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Candida</i> spp.

Ecología microbiana

Se considera que el papel de los microorganismos del Género *Prevotella* en el desarrollo de enfermedades se debe a procesos de sinergia con otros microorganismos (Briceño *et al.*, 2009; Tomás *et al.*, 2016; Larsen, 2017), pues a pesar de ser especies oportunistas, las infecciones por *Prevotella* son de tipo polimicrobiano; sólo asociándose con otros anaerobios que forman parte de la microbiota residente de determinado sitio es que pueden causar disbiosis; en particular se asocian con *Peptoestreptococcus* (BAGP), *Porphyromonas sp.* y especies de *Fusobacterium*; así como anaerobios facultativos grampositivos y gramnegativos. (Llop *et al.*, 2001).

En estudios de periodontitis se ha encontrado una microbiota compleja, la cual comprende bacterias anaerobias Gram negativas y Gram positivas, así como bacterias anaerobias facultativas, incluyendo las bacterias AGNP. Estos estudios han demostrado que *Porphyromonas sp.* (23.08%) y *Prevotella sp.* (56.40%) son las bacterias con mayor abundancia y las que con mayor frecuencia se aíslan del proceso infeccioso; se ha identificado una relación sintrófica entre ambos grupos bacterianos (Guilarte, 2002).

En otros estudios, se ha encontrado una relación entre *Prevotella*, *Porphyromonas*, y *P. gingivalis* en la fagocitosis y destrucción de bacterias aerobias, en el que estos anaerobios estrictos inhiben dichos procesos y promueven su crecimiento.

Asimismo, las bacterias pueden proporcionarse nutrientes mutuamente. Por ejemplo, *Klebsiella* produce succinato, que alimenta *Porphyromonas asaccharolytica*, y los difteroides de la boca producen vitamina K1, que es un factor de crecimiento de *Prevotella melaninogenica* (Peña *et al.*, 2007).

En general, el papel de los anaerobios en la patología periodontal se relaciona con alteraciones en la inmunidad local, pues más de la mitad de los bacilos anaerobios gramnegativos como: *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Bacteroides* y *Fusobacteria spp.*, son capaces de producir β -lactamasa, una enzima capaz de romper e inactivar antibióticos como penicilina, cefalosporina, monobactámico y carbapenémico, lo

cual resulta contraproducente y conlleva a fracasos terapéuticos en infecciones dentarias, así como en infecciones de cabeza y cuello.

Otras bacterias que han sido aisladas de pacientes con periodontitis crónica son *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Streptococcus* beta hemolítico y microorganismos del género *Staphylococcus* (Hurtado *et al.*, 2017).

Por otro lado, en lesiones de piel y tejidos blandos la presencia de microorganismos anaerobios (*Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp. y *Peptostreptococcus* spp.) influye en un 38-48% durante el proceso de infección. Y en muchas de estas infecciones se ha observado sinergia entre aerobios y anaerobios, lo cual potencia la aparición de la infección. Los aerobios consumen O₂ y disminuyen el potencial de óxido-reducción, favoreciendo la proliferación de los anaerobios. Algunos aerobios (como *S. aureus*) producen metabolitos (p. ej., vitamina K) que potencian el crecimiento de determinados anaerobios (entre ellos, *Prevotella melaninogenica*) (Burillo *et al.*, 2007).

A groso modo, la gravedad de las infecciones en las que participan especies de anaerobios como *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium* y *Peptostreptococcus* se facilita por la sinergia que estos microorganismos muestran entre sí y con microorganismos aerobios. Si bien esta sinergia es frecuente en la patología periodontal por la multiplicidad de los microorganismos y por el hecho de que tienen necesidades complementarias, existen otros mecanismos (protección contra la fagocitosis mutua, protección ante la muerte intracelular y la producción de factores de crecimiento esenciales) que pueden explicar la sinergia microbiana en infecciones pulmonares.

Casos clínicos de empiema se deben a la composición de bacterias anaerobias (35%), aerobias (24%) y, con frecuencia a las relaciones intra e interespecíficas de ambas de modo simultáneo (41%), por ejemplo bacterias anaerobias como *Bacteroides fragilis*, *Prevotella* spp., *Fusobacterium* spp. y *Peptotresptococcus* spp. se han reportado en casos de empiema pleural en los que la extensión y complicación se debió a la sinergia entre estos grupos bacterianos (Alcalá *et al.*, 2015).

Asimismo, la mayoría de los abscesos de pulmón surgen como complicación de una neumonía aspirativa y son causados, principalmente, por gérmenes anaerobios presentes en la boca, que tras la aspiración producen una neumonitis tanto en el árbol bronquial como en el parénquima pulmonar, originando la liberación de citoquinas proinflamatorias como son el TNF- α (Factor de necrosis tumoral-alfa) y la IL-8 (Interleucina-8) que permiten la evolución y progresión de la neumonitis a necrosis tisular (Sánchez *et al.*, 2003).

Entre las bacterias anaerobias implicadas en esta lesión se ha encontrado a *Streptococcus milleri* y *estreptococos microaerófilicos*, sin embargo, aunque estos *estreptococos* pueden causar abscesos pulmonares, se afirma que sólo pueden ser de tipo monomicrobiano; la mayoría de abscesos pulmonares (aproximadamente 85%-93%) se da por asociaciones de infecciones mixtas con anaerobios (Bartlett, 1979).

Las asociaciones de infecciones polimicrobianas con anaerobios se dan principalmente con los géneros: *Peptostreptococcus*, *Fingoldia*, *Prevotella*, *Bacteriodes* spp y *Fusobacterium* spp, *Clostridium* (Fernández *et al.*, n.d).

Determinado número de microorganismos oportunistas pueden dominar la patogenia del absceso pulmonar, sobre todo conforme avanza la infección y se transforma en infección crónica. A mayor infección, mayor será la carencia de oxígeno en los tejidos, lo cual estimula el crecimiento de las bacterias anaerobias. A medida que se cronifica el trastorno, las bacterias anaerobias excluyen a otros microorganismos de la microbiota presente, consolidando y promoviendo su crecimiento (infección) (Peña *et al.*, 2007).

Factores de virulencia

Los BGNA poseen factores de virulencia que le permiten adherirse, invadir y constituirse en biofilms. La formación de abscesos y la destrucción tisular son presentaciones características de estas bacterias (Lopardo *et al.*, 2016).

Aunados a los factores de virulencia mencionados, el *mutualismo* y el *sinergismo* que se basan en la colaboración nutricional y la potenciación de los efectos entre

las especies, son determinantes para el establecimiento de la infección. La capacidad de formar abscesos por parte de estas bacterias y la sucesión microbiana autogénica en el biofilm subgingival de la enfermedad periodontal son ejemplos de este comportamiento (Larsen, 2017).

Algunos mecanismos de virulencia que presentan las especies de este género, son:

<i>Presencia de fimbrias</i>	Encargadas de proveer una mayor capacidad de adhesión al microorganismo, interviniendo en el proceso de adhesión, agregación y congregación interbacteriana.
<i>Presencia de adhesinas</i>	Moléculas que interactúan con un receptor proteico o polisacárido ubicado en otra bacteria.
Capacidad para remover el oxígeno superficial	A través de la producción de pigmentos de color negro o marrón remueven O ² , lo que les permite co-habitar en ambientes oxigénicos.
<i>Resistencia a antibióticos</i>	Aspecto particular de la evolución natural de las bacterias, que se da bajo la utilización de productos antibacterianos, con el tiempo limita de forma progresiva las posibilidades de emplear antibióticos en tratamientos y que estos sean eficaces.
<i>Formación de biofilms.</i>	Importantes no sólo para el desarrollo de infecciones agudas y crónicas y el aumento a la resistencia de las bacterias frente a los antibióticos, a los desinfectantes y a la respuesta inmunológica del hospedador, tiene un papel protector que confiere los requerimientos necesarios (agua, nutrientes, enzimas, etc.) a las bacterias para su crecimiento y desarrollo.
<i>Relaciones de sinergismo</i>	La coexistencia con la microbiota aeróbica conlleva una situación de sinergismo en el sitio de la infección. Las bacterias aerobias consumen el oxígeno, promoviendo las condiciones apropiadas para el desarrollo de los anaerobios.

CARACTERIZACIÓN

Género *Neisseria*

Taxonomía

Dominio: *Bacteria*

Filo: *Proteobacteria*

Clase: *Beta Proteobacteria*

Orden: *Neisseriales*

Familia: *Neisseriaceae*.

Género: *Neisseria*

Fuente: Bergey's Manual® (2012)

Generalidades

El género *Neisseria* fue descrito por el médico dermatólogo Albert Neisser en 1879, sin embargo, el nombre se le atribuye al italiano V. Trevisan quien en 1885 propuso llamarle así como homenaje a Neisser quien había descubierto el agente causante de la gonorrea, *Neisseria gonorrhoeae* (Febrer, 2013).

Neisseria es un género de bacterias, perteneciente a las proteobacterias, un grupo de bacterias Gram-negativas. Comprende dos especies patógenas para el hombre; siendo éste el único reservorio conocido: *N. meningitidis* y *N. gonorrhoeae* (Berkowitz, 2016).

Especies

El género *Neisseria* está compuesto por 28 especies que pueden aislarse de humanos y animales (**Tabla 2**) Aunque la mayoría de los integrantes de este género son especies comensales (en el hombre), se incluyen dos especies patógenas de gran importancia clínica *Neisseria meningitidis* y *N. gonorrhoeae* (Van Putten y Tonjum, 2017).

N. meningitidis, también denominado meningococo, se transmite por secreciones orofaríngeas de gotas grandes y rara vez causa enfermedad meningocócica invasiva (EMI), en forma de meningitis y sepsis. Por otro lado, *N. gonorrhoeae*, que también se llama gonococo, se transmite por contacto sexual y es el agente causal de la gonorrea (Elias *et al.*, 2015). Producen importantes enfermedades humanas y su localización característica es intracelular.

En el hombre, las principales especies de *Neisseria* presentes son: *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *N. lactamicus*, *N. sicca*, *N. catarrhalis* (ahora *Moraxella catarrhalis*), *N. flava*, *N. subflava*, *N. perflava* y *N. flavascens* (Motas, 2001).

Morfología

Neisseria presenta microorganismos con forma esférica de aproximadamente 0,6 a 1,5 μm , se presentan aislados (cocos) o en parejas (diplococos) con los lados adyacentes planos (adoptando una morfología semejante a la de un grano de café), todas las especies son aeróbicas estrictas, gram negativas, no producen esporas, son inmóviles y casi todas presentan cápsula y pili (fimbrias) (excepto *N. gonorrhoeae*).

Crecen entre los 35 y 37°C. Este crecimiento es óptimo en presencia de CO₂ y humedad. Todas las especies son oxidasa-positivas y casi todas (a excepción de *Neisseria elongata*) sintetizan catalasa. (Motas, 2001; Pfaller *et al.*, 2014).

Hábitat

Especies de *Neisseria* no patógenas, se encuentran habitualmente formando parte de la microbiota normal de la mucosa orofaríngea (*N. sicca*, *N. flavescens*).

Otras especies no patógenas son habitantes inocuos del tracto respiratorio (*Neisseria lactamica* y *Neisseria sicca*, *N. cinérea*, *N. flavescens*, *N. subflava*, *N. mucosa*) y tracto alimentario superior, (Zamorano *et al.*, 2002; Simón, 2012; Unemo *et al.*, 2014; Berkowitz, 2016). De estas especies no patógenas, su localización es extracelular y con raras excepciones producen enfermedad (patógenos oportunistas) (Motas, 2001). En menor medida *Neisseria* se puede encontrar en la microbiota vaginal de mujeres sanas (*N. lactamica*). Anormalmente *N. gonorrhoeae* se puede encontrar en el tracto urogenital y aparato reproductor femenino y masculino por contacto sexual. Pero nunca *N. gonorrhoeae* formara parte de la microbiota normal de la boca. Su presencia en ella se debe, casi siempre, a prácticas sexuales genitorales y, excepcionalmente, a una diseminación hematológica, razón por la que se considera un microorganismo transitorio o transeúnte de la cavidad bucal. Esta especie se aísla en raros casos de gonococcia oral a partir de las lesiones de paladar, lengua, encía y mucosa yugal, y se puede encontrar en la saliva de los pacientes afectados (Pardi *et al.*, 2004).

Cabe mencionar que la manera en que pueden llegar a habitar el nicho pulmonar, se debe a que en el tracto respiratorio superior existen mecanismos como el movimiento de los cilios, la lisozima del moco y la actividad fagocítica de los macrófagos alveolares, los cuales aparte de constituir una defensa a la instalación de bacterias patógenas, en particular para este género les permiten transportarse y llegar hasta dicha zona (Motas, 2001).

Por otro lado, si bien la nasofaringe del neonato es estéril al nacimiento, en 2 o 3 días se coloniza con la microbiota indígena de la madre y del personal del hospital, es así como bacterias consideradas patógenas como *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Staphylococcus aureus* y *Bordetella pertussis* pueden transmitirse y cohabitar dentro del ser humano.

Y aunque en diversas ocasiones, cepas de *N. meningitidis* pueden colonizar la orofaringe y transportarse a las vías respiratorias inferiores, pueden co-habitar sin provocar patología, dando lugar al estado de portador.

Tabla 2. Especies de <i>Neisseria</i>			
Humanos			Animales
Orofaringe	Tracto Respiratorio	Tracto Urogenital	
<i>N. meningitidis</i> <i>N. lactamicus</i> <i>N. gonorrhoeae</i> <i>N. animaloris</i> <i>N. bacilliformis</i> <i>N. cinérea</i> <i>N. elongata</i> <i>N. flavescens</i> <i>N. mucosa</i> <i>N. polysaccharea</i> <i>N. sicca</i> <i>N. subflava</i> <i>N. zoodegmatis</i> <i>N. weaveri</i> <i>N. catarrhalis</i>	<i>N. lactamicus</i> <i>N. sicca</i> <i>N. mucosa</i> <i>N. perflava</i> <i>N. cinérea</i> <i>N. flavescens</i> , <i>N. subflava</i>	<i>N. gonorrhoeae</i> <i>N. lactamicus</i>	Perros <i>N. weaveri</i> , <i>N. flavescens</i> , <i>N. animaloris</i> , <i>N. sicca</i> , <i>N.</i> <i>canis</i> , <i>N. shayeganii</i> , <i>N.</i> <i>zoodegmatis</i>
			Conejillo de indias <i>N. animalis</i> , <i>N. denitrificans</i>
			Vaca <i>N. dentiae</i>
			Gato, leopardo, león, tigre <i>N. animaloris</i>
			Iguanas <i>N. igaunae</i>
			Delfines <i>N. mucosa</i>
			Monos <i>N. macacae</i>
			Buitre <i>N. sicca</i>
			Pato <i>N. mucosa</i>
			Mosquito, Mosca, garrapata <i>Neisseria</i> spp.

Metabolismo

Los miembros del género *Neisseria* poseen un metabolismo oxidativo, por lo que, al degradar carbohidratos, originan la producción de ácido, pero no de gas.

Neisseria spp., no son capaces de fermentar. Por ello, este patrón de fermentación constituye uno de los principales métodos para su diferenciación.

A excepción de *Neisseria elongata*, todas las especies elaboran oxidasa y catalasa, pruebas claves en la identificación del género *Neisseria*.

Infecciones asociadas al género *Neisseria*

Como se mencionó anteriormente, en el humano, la mayoría de las especies de *Neisseria* son habitantes normales de la mucosa nasofaríngea (Zamorano *et al.*, 2002) y habitantes normales de las vías respiratorias altas. No se consideran patógenos, aunque a veces se les puede aislar en procesos infecciosos, en particular durante el curso de una enfermedad de inmunosupresión (Simón, 2012).

A continuación, se presentan las infecciones y enfermedades asociadas al género *Neisseria* (**Tabla 3**).

Tabla 3. <i>Neisseria</i> y otras bacterias asociadas con enfermedades humanas	
Faringitis	<i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Streptococcus</i> grupo C, <i>Arcanobacterium haemolyticum</i> , <i>Chlamydophila pneumoniae</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Corynebacterium ulcerans</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Francisella tularensis</i>
Conjuntivitis	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus aegyptius</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Francisella tularensis</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i>
Queratitis	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Streptococcus</i> grupo A, <i>Proteus mirabilis</i> y otras <i>enterobacterias</i> , especies de <i>Bacillus</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , otras <i>enterobacterias</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> ,

Neumonía	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Chlamydophila pneumoniae</i> , <i>Chlamydophila psittaci</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , especies de <i>Burkholderia</i> , especies de <i>Legionella</i> , <i>Francisella tularensis</i> , <i>Bacteroides fragilis</i> , especies de <i>Nocardia</i> , <i>Rhodococcus equi</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> y otras especies, <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Rickettsia rickettsii</i>
Prostatitis	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , otras enterobacterias, especies de <i>Enterococcus</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> y otras especies
Peritonitis	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacteroides fragilis</i> y otras especies, especies de <i>Enterococcus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , otras enterobacterias, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , especies de <i>Fusobacterium</i> , especies de <i>Clostridium</i> , especies de <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Miocarditis	<i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Streptococcus</i> grupo A, <i>Borrelia burgdorferi</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydophila pneumoniae</i> , <i>Chlamydophila psittaci</i> , <i>Rickettsia rickettsii</i> , <i>Orientia tsutsugamushi</i>
Pericarditis	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> y otras especies
Meningitis	<i>Streptococcus</i> grupo B, <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Escherichia coli</i> , otras enterobacterias, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus coagulasa-negativos</i> , especies de <i>Propionibacterium</i> , especies de <i>Nocardia</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> y otras

	especies, <i>Borrelia burgdorferi</i> , especies de <i>Leptospira</i> , <i>Treponema pallidum</i> , especies de <i>Brucella</i>
Empiema subdural	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus</i> grupo B, <i>Neisseria meningitidis</i> , mezcla de anaerobios y aerobios
Proctitis	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Treponema pallidum</i>
Artritis	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , especies de <i>Salmonella</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , especies de <i>Mycobacterium</i>
Uretritis	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Ureaplasma urealyticum</i>
Cervicitis	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Streptococcus</i> grupo B, <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , especies de <i>Actinomyces</i>

Ecología Microbiana

En general, las especies de *Neisseria* se desarrollan como microorganismos comensales.

Por ejemplo, y principalmente *Neisseria sicca* y *Neisseria mucosa* se desarrollan como microorganismos comensales en la orofaringe. Estos microorganismos se han visto implicados en casos aislados de meningitis, osteomielitis y endocarditis, así como en infecciones broncopulmonares, otitis media aguda o sinusitis agudas. Pero no se conoce la verdadera incidencia de las infecciones respiratorias producidas por estos microorganismos debido a que son microorganismos oportunistas y no patógenos. Sin embargo, la presencia de un gran número de diplococos gramnegativos de *Neisseria* spp. asociados con células inflamatorias en una muestra respiratoria recogida de forma correcta respalda el papel etiológico de estos microorganismos.

A su vez, se ha encontrado que la mayor parte de las cepas de *N. sicca* y *N. mucosa* son sensibles a la penicilina, aunque se ha visto resistencia de bajo valor cuando hay tratamiento médico.

Por otro lado, existe también sinergia y sincronismo de este género en las ETS. Especialmente la especie *N. gonorrhoeae* actúa como factor de riesgo para la aparición de otras. Reactiva las infecciones latentes por *Chlamydia trachomatis*, esta última a su vez favorece la infección concomitante del virus del papiloma humano e incrementa la susceptibilidad a infecciones bacterianas (Domínguez y Díaz, 2008).

En contraparte *N. meningitidis* no necesita establecer relaciones interespecíficas para persistir, pues es capaz de sobrevivir y proliferar en el torrente circulatorio gracias a la presencia de factores de virulencia que le permiten evadir los mecanismos de defensa del hospedador. La cápsula polisacárida es su principal mecanismo, tiene un importante papel antifagocítico y protege al microorganismo frente a la lisis mediada por el complemento, mientras que la potente endotoxina interviene en el desarrollo de diversas manifestaciones clínicas. *N. meningitidis* no produce exotoxinas específicas, pero libera vesículas de endotoxinas que tienen importancia en la virulencia (Medina, *et al.*, 2017).

Factores de virulencia

Los siguientes factores de virulencia que se describen a continuación se refieren principalmente a *N. gonorrhoeae* y *N. meningitidis*, especies patógenas de importancia clínica que entran al organismo, invadir los tejidos y provocar enfermedad, (Alfaro, 2005).

Cápsula de Polisacáridos. El rol de la cápsula en la virulencia de la bacteria *Neisseria* (y de las bacterias gram negativas en general) es proteger a la bacteria de la respuesta inflamatoria del hospedero, así como a la activación del complemento y la muerte mediada por fagocitosis.

En especial, para el serogrupo B (*N. meningitidis*), la cápsula formada por ácido siálico representa una doble ayuda, ya que al simular moléculas del hospedero, el

cuerpo humano no puede desarrollar anticuerpos protectores contra ella y al no ser antigénica, tampoco se puede utilizar para la creación de vacunas. Además, contribuye en gran medida, al paso de la bacteria a través del flujo sanguíneo, evadiendo así la respuesta inmune.

Pili tipo IV. Son estructuras filamentosas que constan de subunidades de proteínas que se extienden desde la superficie de la bacteria. Su rol en promover la adhesión a las células endoteliales y epiteliales es esencial y ha sido bien establecido y se ha determinado como el principal mecanismo mediante el cual las bacterias encapsuladas se adhieren.

Adhesinas. Moléculas con capacidad de adhesión, distintas de los pili en cuanto a forma, pero que permiten adherirse a las células endoteliales y epiteliales.

PM Proteínas de clase 5 (Opa) y las proteínas Opc. La función de estas proteínas es la de mediar la interacción entre los meningococos no encapsulados y las células eucarióticas, en bacterias encapsuladas que no median ningún tipo de unión. Estas proteínas facilitan la interacción con las células epiteliales, los polimorfonucleares y las células endoteliales. También se ha establecido que las proteínas Opa se enlazan a miembros de la familia de las CD66, mediando la adhesión y la invasión a las células. Los proteoglicanos de superficie de células epiteliales se han observado, de manera reciente, como receptores de proteínas Opc; sin embargo, el mecanismo exacto por medio del cual se da este procedimiento no ha sido elucidado.

Porinas. Las porinas de *Neisseria* se han visto al translocar espontáneamente como canales dependientes de voltaje dentro de membranas plasmáticas de células eucariotas, causando un cambio en el potencial de membrana e interfiriendo con la señalización celular, además de promover la internalización de la bacteria mediante un mecanismo de reorganización de actina.

Proteasa de IgA1. Es producida por todos los serogrupos de *Neisseria* y liberada al medio. Es una endopeptidasa con una gran afinidad por la IgA humana. Tiene un

papel crucial en la colonización de la mucosa y en los últimos tiempos se ha destacado su relevancia en el sobrevivimiento intracelular.

Componentes de la pared celular, LPS, ácido teicoico y fragmentos de peptidoglican. El componente principal es la endotoxina; este componente desencadena un cuadro de sepsis seguido de shock tóxico, que puede concluir con un fallo multiorgánico y la muerte, se presenta principalmente en la especie *N.meningitidis*, la cual libera al medio grandes cantidades de endotoxina que dañan al endotelio causando una importante respuesta inflamatoria y necrosis vascular.

A parte de los factores de virulencia que presenta este género, se destacan otros mecanismos que permiten la evasión de la respuesta inmune.

Entre ellos se encuentra el hecho de que algunos organismos de *Neisseria* spp. evitan encontrarse con las defensas del hospedero, residiendo en sitios privilegiados inmunológicamente, es decir, sitios protegidos de las defensas humorales y celulares. Ejemplos de tales sitios incluyen: riñones, ciertas partes del cerebro y la capa epitelial de las mucosas respiratoria, urogenital y glándulas mamarias.

Asimismo, existen organismos capaces de liberar sus antígenos superficiales en forma soluble durante las infecciones sistémicas. Como ejemplos tenemos: *Candida albicans*, *S. pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *P. aeruginosa*, *Trypanosoma cruzi* y *Toxoplasma gondii* (Motas, 2001).

Algunos otros organismos (*Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*) producen enzimas (proteasas) que separan una o ambas subclases de la IgA humana, que es la mediadora principal de la inmunidad humoral en las superficies mucosas. Estas proteasas IgA son biológicamente significativas y pueden desempeñar un papel en algunas enfermedades asociadas a las membranas mucosas.

De particular interés es el hecho de que los organismos que producen proteasas IgA son realmente asociados con enfermedades infecciosas que tienen lugar o se

originan en las superficies mucosas, como: meningitis bacteriana, infecciones vaginales y del tracto urinario, y enfermedad periodontal.

En general, la evasión de la respuesta inmune puede ocurrir por la modificación de sus antígenos superficiales, lo cual es posible durante una infección única o por un período con diferentes infecciones.

CARACTERIZACIÓN

Género *Moraxella*

Taxonomía

Dominio: *Bacteria*

Filo: *Proteobacteria*

Clase: *Proteobacteria gamma*

Orden: *Pseudomonadales*

Familia: *Moraxellaceae*

Género: *Moraxella*

Fuente: Bergey's Manual® (2012)

Generalidades

El género *Moraxella*, recibe su nombre del oftalmólogo suizo Víctor Morax, quien identificó la especie *Moraxella lacunata* por primera vez en una infección de conjuntivitis (Murray *et al.*, 2007; Murray *et al.*, 2016; Knoop, 2014; Río, 2017).

Este género de bacterias incluye microorganismos con forma de cocos o bacilos que se presentan característicamente en pares. Contiene 19 especies diferentes, que han sido aisladas de una variedad de huéspedes mamíferos, tanto acuáticos como terrestres, incluido el hombre (Embers *et al.*, 2011; Kieffer *et al.*, 2017); se subdivide en dos subgéneros que se diferencian por su morfología, el primer subgénero, también llamado *Moraxella*, incluye a los organismos con forma de bacilo mientras que el subgénero, *Branhamella*, comprende organismos cocoides (Betts, 2006).

Del subgénero *Moraxella* las especies médicamente importantes son *M. atlantae*, *M. lacunata*, *M. nonliquefaciens* y *M. osloensis*, mientras que del subgénero

Branhamella, la especie principal, es *Moraxella catarrhalis*, un diplococo gramnegativo que forma parte de la microbiota normal del aparato respiratorio superior del hombre. Se ha aislado en casos clínicos de otitis media, sinusitis, bronquitis y bronconeumonía (Embers *et al.*, 2011; Castro, 2014).

Cabe destacar, que con regularidad las especies del género *Moraxella*, y más particularmente, *M. catarrhalis* pueden confundirse con *Neisseria* spp., tanto por su morfología como por la prueba de oxidasa y catalasa.

Para diferenciarlas es necesario realizar una tinción de Gram aun cuando ambos géneros de bacterias son Gram negativas, esto es porque aparte de que la tinción de Gram permite distinguir entre bacterias Gram negativas y Gram positivas, también permite distinguir bacterias de un mismo grupo de tinción, a través de características como la forma, el óptimo de temperatura, pH en el que se desarrollan y requerimientos de O₂ (Mollinedo y Gonzáles, 2014).

Apuntando a la primera característica de diferenciación, las especies de *Neisseria* se observarán completamente cocoides y las de *Moraxella* producirán formas elongadas, pleomórficas. También es posible diferenciarlas por la incapacidad que presenta el género *Moraxella* para formar ácido a partir de los hidratos de carbono, pues la mayoría de las *Neisseria* si son capaces de fermentar algunos carbohidratos (Knoop, 2014).

Especies

El género *Moraxella* se conforma por 19 especies: *M. [B.] catarrhalis*, *M. atlantae*, *M. boevrei*, *M. bovis*, *M. canis*, *M. caprae*, *M. [B.] caviae*, *M. [B.] cuniculi*, *M. equi*, *M. lacunata*, *M. lincolnii*, *M. nonliquefaciens*, *M. oblonga*, *M. osloensis*, *M. saccharolytica*, *M. [B.] Ovis*, *M. urethralis*. *M. fenilpiruvica* y *M. anatipestifer* (Betts, 2006).

De estas especies las de mayor importancia clínica son *M. catarrhalis*, *M. lacunata*, *M. nonliquefaciens*, *M. osloensis* y *M. atlantae* en el hombre, y en mamíferos animales *M. canis* y *M. bovis*.

En el hombre, *M. catarrhalis* es la especie de mayor importancia médica, es una bacteria comensal y patógena oportunista de la mucosa; por su frecuencia y alta prevalencia en la población infantil (60%), adulta (7%) y anciana (30%) es considerada el tercer patógeno más importante del tracto respiratorio después de *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*.

M. catarrhalis es una bacteria comensal porque puede co-habitar determinado hábitat interrelacionándose con otros géneros sin causar padecimientos. A ese respecto, es conveniente mencionar que la microbiota residente comensal está compuesta por bacterias patógenas y no patógenas “*patobiontes*”. Los patobiontes son microorganismos que pueden convertirse en patógenos en circunstancias donde disminuyen las defensas del huésped, (Ivanov y Honda, 2012; Li *et al.*, 2019) cambia el microambiente (pH, tensión de oxígeno, temperatura, nutrientes) o por inflamación o infección de otro microorganismo (Dickson *et al.*, 2016; Sebastián-Domingo y Sánchez-Sánchez 2018).

Dickson *et al.*, (2015) y Foster *et al.*, (2017) señalan que existen otros factores como la cantidad, calidad o diversidad de los microorganismos residentes y la interrupción de éstos, que 1) ocasionan y 2) agudizan la inflamación, a este estado en el que la microbiota residente es la causa de la enfermedad o la fuente de daño hacia el huésped se le denomina disbiosis; pero la disbiosis no siempre es causa de la enfermedad, también puede ser resultado de ella

Morfología

Las especies de *Moraxella* son bacterias gramnegativas, con formas pleomórficas de cocos y bacilos que se presentan predominantemente en pares o cadenas cortas. Las especies con forma de bacilo (subgénero *Moraxella*) varían de tamaño de 1.0-1.5 x 1.5-2.5 µm y las especies con forma de cocos (subgénero *Branhamella*) tienen un diámetro de 0.6 a 1.0 µm (Embers *et al.*, 2011; Cooke y Slack, 2017; Ruiz *et al.*, 2019).

Todas las especies son aerobias estrictas, en su mayoría inmóviles y poseen fimbrias tipo 4. A reserva de *Moraxella bovis* el resto son microorganismos no

encapsulados y ninguna especie produce pigmento (Balder *et al.*, 2009; Knoop, 2014; Cooke y Slack, 2017).

Metabolismo

En general *Moraxella* spp. son bacterias quimiorganotrofas, incapaces de utilizar compuestos de un solo átomo de carbono (Embers *et al.*, 2011), asacarolíticas, oxidasa, catalasa y ureasa positivas (Murray *et al.*, 2016; Cooke y Slack, 2017).

Las especies *M. canis*, *M. catarrhalis*, *M. cuniculi*, *M. caviae* y *M. ovis* del subgénero *Branhamella* (cocoides) presentan actividad DNAsa positiva a diferencia de las *Moraxellas* bacilares (Koneman *et al.*, 2008). La actividad DNAsa refiere a una prueba bioquímica que permite identificar la detección de nucleasas y con ello la capacidad de hidrolizar el ADN. Su papel a nivel de los procesos infecciosos consiste en destruir el ADN de las células muertas, haciendo el pus más fluido (Chans, 2007).

Más del 90% de las cepas son resistentes a antibióticos β -lactámicos (penicilinas, amoxicilina, ampicilina, etc.) por la producción de β -lactamasas (tipo BRO-1 y con menos frecuencia el tipo BRO-2 y BRO-3) (Sánchez y Naranjo, 2015; Murray *et al.*, 2016). Las enzimas β -lactamasas: BRO-1 y BRO-2 son exclusivas de este género y son inducibles (Cooke y Slack, 2017).

Hábitat

Como se ha mencionado en apartados anteriores, las especies de *Moraxella* forman parte de la microbiota normal de la piel y de las superficies mucosas tanto de animales como humanos (Koneman *et al.*, 2008; Aebi, 2011; Kieffer *et al.*, 2017) **(Cuadro 4)**.

En el hombre, *M. osloensis*, *M. catarrhalis*, *M. nonliquefaciens* y *M. lincolnii*, forman parte de la microbiota normal del tracto respiratorio humano (Murray *et al.*, 2016), mientras que en animales, *M. canis*, reside en las vías aéreas de perros y gatos y es una especie de importancia clínica debido a que en humanos, ha sido frecuentemente aislado en sangre, en ganglios linfáticos y en heridas por mordedura

de perro junto con otros microorganismos aerobios y anaerobios (**Cuadro 5**) (Koneman *et al.*, 2008; Reyes *et al.*, 2013).

No obstante, aunque varias especies de animales (gatos, perros, caballos, cabras, cerdos, etc.) son hospederos de especies de *Moraxella*, no se ha documentado la transmisión de animales al hombre (zoonosis), pero no se descarta que pueda ocurrir.

Por otro lado, y como se refirió en las primeras líneas de este apartado, *Moraxella* spp. es parte de la microbiota residente del hombre, la cual tras el nacimiento por vía intrauterina o cesárea, coloniza la piel y las mucosas del neonato (Gómez, 2012).

Su presencia en el tracto respiratorio inferior responde a que por medio de la continuidad anatómica que existe entre éste y la cavidad oral, se hace posible una vía de transporte y alojamiento hacia el pulmón (Puchades, 2017).

Además, mediante las frecuentes microaspiraciones documentadas en individuos sanos y que son más frecuentes durante el proceso infeccioso de enfermedades como gripe y catarro se facilita la diseminación de microorganismos hacia las vías aéreas inferiores.

Autores como García-Pachón (2017), Rivero (2017), Motas (2001) y Somogyi *et al.* (1998), sugieren que gran parte de los microorganismos que producen infecciones de las vías respiratorias inferiores primero colonizan el epitelio nasal y faríngeo y posteriormente logran alcanzar el tracto respiratorio inferior cuando los mecanismos normales de defensa (alteraciones en el cierre glótico, alteraciones en el reflejo tusígeno y en la aclaración mucociliar) y la microbiota residente se alteran, que por lo general esto es a causa de una infección viral.

Cuadro 4. Especies de <i>Moraxella</i>					
Humanos					Animales
Piel	Ojos	Orofaringe	Tracto Respiratorio	Tracto urogenital	
<i>M. osloensis</i>	<i>M. catarrhalis</i>	<i>M. catarrhalis</i>	<i>M. catarrhalis</i>	<i>M. osloensis</i>	Bovinos <i>M. bovis</i>
<i>M. nonliquefaciens</i>					Ovinos <i>M. bovis</i> , <i>M. [B.] Ovis</i>
<i>M. lacunata</i>					Caballos <i>M. bovis</i> ,
<i>M. atlantae</i>					Cabras <i>M. boevrei</i> , <i>M. caprae</i>
<i>M. lincolnii</i>					Gatos <i>M. canis</i>
					Perros <i>M. canis</i>
					Ratones <i>Moraxella</i> spp.
					Cuyos-Cobayos <i>M. [B.] caviae</i>
					Conejos <i>M. [B.] cuniculi</i> ,
					Cerdos <i>Moraxella</i> spp

Tomado de: Koneman *et al.*, 2008; Aebi, 2011; Embers *et al.*, 2011; Kubota *et al.*, 2012; Kieffer *et al.*, 2017; Lim *et al.*, 2018; Gómez *et al.*, 2018; Ruiz *et al.*, 2019).

Tipo de mordedura	Aerobios	Anaerobios
Mordedura de gato	<i>Pasteurella</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Moraxella</i> spp	<i>Fusobacterium</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp. <i>Porphyromonas</i> spp.
Mordedura de perro	<i>Pasteurella</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Neisseria</i> spp.	<i>Fusobacterium</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp. <i>Porphyromonas</i> spp. <i>Prevotella</i> spp. <i>Capnocytophaga</i> spp.

Fuente: Jiménez, 2009.

Infecciones asociadas al género *Moraxella*

Aun cuando este género se ha catalogado como un habitante normal del sistema respiratorio del hombre, estudios de Murphy *et al.*, (2004), Murphy *et al.*, (2008), Gómez, (2012) y García-Pachón (2017) mencionan que puede no ser responsable de enfermedades puesto que no es el agente etiológico, pero si contribuir a propiciar el desarrollo de la enfermedad. Por ejemplo *M. catarrhalis*, ha sido documentado como una causa de las exacerbaciones en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y a menudo se ha aislado en casos de infecciones respiratorias, del oído interno, meningitis, laringitis, infecciones del tracto genitourinario, casos raros de artritis séptica y queratitis, infecciones nosocomiales, heridas infectadas, neumonías, infecciones sistémicas, entre otras (**Tabla 6**).

Infecciones óticas (otitis media)		<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>M. lacunata</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus</i> grupo A, mezcla de anaerobios y aerobios.
Infecciones oculares	Conjuntivitis no gonocócica	<i>S. aureus</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> biogrupo <i>aegyptius</i> , <i>Moraxella lacunata</i> , <i>Moraxella nonliquefaciens</i> , <i>Moraxella osloensis</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>C. trachomatis</i> , <i>Enterobacterias</i> , <i>P. aeruginosa</i>
	Queratitis	<i>P. aeruginosa</i> , <i>M. lacunata</i> , <i>M. bovis</i>
Bronquitis		<i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Bordetella pertussis</i> ,

	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydophila pneumoniae</i>
Neumonía	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , otras enterobacterias, <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Moraxella nonliquefaciens</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Chlamydophila pneumoniae</i> , <i>Chlamydophila psittaci</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , especies de <i>Burkholderia</i> , especies de <i>Legionella</i> , <i>Francisella tularensis</i> , <i>Bacteroides fragilis</i> , especies de <i>Nocardia</i> , <i>Rhodococcus equi</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> y otras especies, <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Rickettsia rickettsii</i>
Meningitis	<i>M. catarrhalis</i> , <i>M. nonliquefaciens</i> , <i>M. osloensis</i>
Bacteriemia	<i>Moraxella atlantae</i> , <i>M. osloensis</i> , <i>M. catarrhalis</i>
Artritis séptica	<i>Haemophilus influenzae</i> , estreptococos grupo B, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>M. catarrhalis</i> , <i>M. osloensis</i> , <i>M. nonliquefaciens</i>
Sinusitis	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , mezcla de anaerobios y aerobios, <i>Moraxella catarrhalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus</i> grupo A, <i>Chlamydophila pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y otros bacilos gramnegativos
Osteomielitis	<i>Streptococcus Agalactiae</i> (Grupo B), <i>Staphylococcus Aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> (Grupo A), bacilos entéricos gram negativos, <i>Moraxella osloensis</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> tipo B, <i>Salmonella</i> spp., <i>Pseudomona Aeruginosa</i> , <i>Brucella</i> spp., <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Candida</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Pneumocystis</i>
Endocarditis.	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>M. catarrhalis</i>
Pericarditis	<i>M. catarrhalis</i>
Infecciones urogenitales	<i>Moraxella osloensis</i> , <i>M. nonliquefaciens</i>
Exacerbaciones en EPOC	<i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i>

Fuente: Rodríguez y Cohrs, 2005; Velasco et al., 2011; Castro, 2014; Cooke y Slack, 2017; Ruiz et al., 2019.

Ecología microbiana

Aun cuando *M. catarrhalis* se ha aislado en muestras de esputo de diferentes enfermedades la interacción de *Moraxella* spp. con otros géneros y especies no se ha estudiado en particular por lo que no se reporta la sinergia de *Moraxella* con otros géneros bacterianos (Leaños *et al.*, 2001).

Rodriguez y Cohrs (2005), mencionan que las bacterias que frecuentemente causan sinusitis aguda son Neumococo (30% a 60%), *Haemophilus influenzae* no-tipificable (20%) y *Moraxella catarrhalis* (20 %). En el caso de otitis media aguda (OMA) son Neumococo (25 % a 50%), *Haemophilus influenzae* no-tipificable (15% a 30%) y *Moraxella catarrhalis* (3% a 20%).

Se ha reportado Mora (1998), Balder (2009), Castro (2014), Gómez *et al.* (2018) y Ruiz *et al.* (2019) que la presencia de las bacterias *M. catarrhalis*, *M. nonliquefaciens* y *M. osloensis* en el esputo de pacientes con signos de infección en el tracto respiratorio no necesariamente establece a dichas bacterias como agentes etiológico exclusivos, debido a que suele confundirse fenotípicamente con especies de *Neisseria* que también colonizan el tracto respiratorio, y porque se ha encontrado que otros factores como las abundancias de la microbiota residente aumentan el riesgo de desarrollar este tipo de infecciones.

Además, aunque el sitio primario de colonización de *Moraxella* spp. es el tracto respiratorio; las tasas de colonización parecen estar influenciadas por otros factores contribuyentes como la edad, la salud, el estado socioeconómico, la ubicación geográfica y la variación estacional. Esta última, en el caso de *M. catarrhalis* se ha identificado como factor en la colonización y la infección posterior basado en el aumento de las tasas de infección en las temporadas de otoño e invierno (Esparcia y Magraner, 2003; Castro, 2014).

Moraxella spp. y particularmente *M. catarrhalis* realiza una acción conjunta con sus mecanismos de virulencia para garantizar su co-habitancia en el tracto respiratorio. Por ejemplo, *M. catarrhalis* se adhiere y reside en la superficie del epitelio del huésped, induciendo una respuesta proinflamatoria. Esta especie bacteriana tiene

una capacidad única para evadir el sistema del complemento, neutralizar la α 1-anticimotripsina, lo que promueve la unión bacteriana y permite que *Moraxella* sobreviva en la mucosa (Vidakovics y Riesbeck 2009; Rosales 2013).

Otra estrategia utilizada por las especies de este género es atraer el plasminógeno zimógeno; en estudios de Anon (n.d.) se menciona que cuando el plasminógeno se une a los patógenos, contribuye a una mayor adherencia a los tejidos del huésped. Curiosamente *M. catarrhalis* utiliza el plasminógeno del huésped para escapar de la defensa innata de éste.

Factores de virulencia

El estudio de los mecanismos de virulencia, se ha centrado en estudios *in vitro*, en condiciones de laboratorio (Esparcia y Magraner, 1896; Luke *et al.*, 2004; Balder *et al.*, 2009; Rosales, 2013; Singh *et al.*, 2015; Cooke y Slack, 2017). Estos estudios demuestran la capacidad de colonización e invasión (adherencia, penetración, diseminación y adaptación) a células del huésped así como su capacidad de evadir los mecanismos de defensa del mismo.

Mecanismos de virulencia de la especie *M. catarrhalis*.

- **Fimbrias tipo 4.** También llamados pili, son apéndices filamentosos que se extienden desde la membrana externa, participan en la adhesión de células epiteliales. Los pili tipo 4, son factores cruciales para la infectividad y las manifestaciones de enfermedades de muchas bacterias patógenas, ya que juegan un papel esencial en la colonización de los tejidos del huésped. Además median la unión a las células huésped; se correlacionan con la motilidad de contracción, una forma de translocación bacteriana sobre superficies húmedas que da como resultado la retracción del pili, formación y estabilidad de biopelículas.

Se correlacionan también con el transporte altamente eficiente de ADN a través de la membrana bacteriana, este mecanismo de transformación del ADN es uno de los principales contribuyentes del intercambio horizontal de información genética entre microorganismos naturalmente competentes debido a que permite transferir información genética de la bacteria con bacterias muy distantes en el plano filogenético y esto es porque la información transmitida por el mecanismo de transformación es de carácter universal y puede ser asimilada por cualquier bacteria; además permite la creación de genes resistentes a los antibióticos (Durich 2000; Sánchez *et al.*, 2012).

- **Lipooligosacárido (LOS).** El lipooligosacárido (LOS) es un factor de virulencia en las bacterias gramnegativas. En especies como *M. catarrhalis*, el lipooligosacárido no expresa el extremo antigénico O de las cadenas, característico de las enterobacterias (LPS); está formado por un lípido A, unido a una estructura interna formada por oligosacáridos.

Al no presentar el extremo antigénico O, la bacteria adquiere mayor capacidad de adherencia a las células epiteliales y evasión del sistema inmune. es decir, ya no se comporta sólo como endotoxina sino que también actúa como una adhesina facilitando la unión de las bacterias a las células y a su vez permite que la infección se establezca o acreciente, por lo que se cataloga como posible inductor y potenciador de infecciones (Hurtado e Iregui, 2010).

- **Cápsula.** La cápsula confiere resistencia contra células fagocitarias del sistema inmunitario del huésped e impide la adherencia de fagocitos a la célula bacteriana.

- **Peptidoglicano.** Como en todas las bacterias gram negativas, *Moraxella catarrhalis* posee capas de peptidoglucano en su pared celular. Se ha demostrado que este compuesto es el responsable de la activación de varias funciones de los macrófagos, por lo que estaría implicado en un tipo de actividad suicida que explica la baja virulencia de esta bacteria en algunas patologías.
- **Proteínas reguladoras del hierro.** Los patógenos humanos requieren hierro para su crecimiento y diferenciación, por lo que un mecanismo de defensa del hospedador consiste en secuestrar este ion que se transporta unido a proteínas, como la transferrina (en sangre) y la lactoferrina (en mucosas). No obstante, así como *Streptococcus mutans*, *Micrococcus spp*, *Clostridium spp*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella spp.* y *E. coli* (Rodríguez *et al.*, 2005; Castrillón *et al.*, 2011) *Moraxella catarrhalis* expresa receptores de transferrina y lactoferrina en su superficie, llamados proteínas de unión a transferrina A y B TbpA y TbpB y proteínas de unión a lactoferrina A y B LbpA y LbpB, respectivamente. Estos receptores proteicos proporcionan a la bacteria la capacidad de adquirir hierro, rompiendo la unión entre el ion y la proteína transportadora humana.

Proteínas de Superficie

- **Adhesinas.** Son moléculas que interactúan con un receptor proteico o polisacárido, son cruciales para el proceso de adherencia, puesto que median la unión de microorganismos a las células humanas y son objetivos potenciales para el desarrollo de vacunas.

La unión de especies de *M. catarrhalis* a las células epiteliales del huésped y a la matriz extracelular (MEC) es multifactorial y se da a través de la expresión de las adhesinas: UspA1, UspA2H, Hag (también designado MID), OMPCD, McaP y fimbrias tipo 4 así como las proteínas filamentosas similares a la hemaglutinina MhaB1, MhaB2, MchA1 y MchA2

Secuestro de Plasminógeno.

El plasminógeno es una glicoproteína que juega un papel homeostático relevante en la degradación de coágulos de fibrina, matrices extracelulares y barreras de tejido. Es importante para la migración celular, así como para promover la liberación de neurotransmisores. El plasminógeno también se puede utilizar como una herramienta para inactivar el sistema del complemento del huésped. Esta última característica es realizada por *M. catarrhalis* a través de proteínas multifuncionales UspA2 y UspA2H quienes reclutan plasminógeno a su superficie.

El plasminógeno unido a la superficie puede convertirse en plasmina contribuyendo así a la virulencia bacteriana.

El proceso de plasminógeno a plasmina se da al existir lesiones en el endotelio del sistema vascular, por lo que se activa el sistema de coagulación, y el coágulo formado principalmente por fibrina debe ser posteriormente degradado por la plasmina. El plasminógeno es activado por los PAs (activadores del plasminógeno), entre ellos la serina proteasa uPA (activador del plasminógeno tipo urocinasa) y tPA (activador del plasminógeno tipo tisular), los cuales efectúan una proteólisis parcial de la proteína para convertirla en plasmina activa (Nolasco *et al.*, 2007; De Hematología, 2017).

La plasmina activa degrada fibrina y diversas proteínas de matriz extracelular y de adhesión así como también elementos de la sangre como fibrinógeno, factor V, Factor VIII, protrombina y factor XII y activa procolagenasas, contribuyendo así a la degradación y recambio de la matriz extracelular. Por lo tanto, siempre que se forme plasmina en un coágulo de sangre, este puede lisar el coágulo y destruir muchos de los factores de coagulación, provocando hipocoagulabilidad de la sangre (Visag, 2012).

Formación de biofilms.

Tras la colonización del epitelio del huésped *M. catarrhalis* puede formar biopelículas, que son importantes en el desarrollo de infecciones agudas y crónicas de la mucosa respiratoria debido a que la formación de biofilm aumenta la

resistencia de las bacterias frente a los antibióticos, a los desinfectantes y a la respuesta inmunológica del hospedador, interfiriendo con el propio tratamiento, pues la persistencia del biofilm en los tejidos pulmonares provoca una respuesta de anticuerpos, que se traduce en inflamación crónica por mediación de granulocitos y provoca daño severo en el pulmón (Zambrano y Londoño, 2006; Jacques *et al.*, 2010).

Resistencia a la activación del complemento.

Algunas cepas de *M. catarrhalis* producen proteínas, entre ellas UspA, CopB y OMP quienes se han visto implicadas en la resistencia a la formación del complejo de ataque a la membrana (MAC) y por ende a la activación del complemento; proporcionando a la bacteria la propiedad llamada “resistencia al suero”.

La resistencia a la actividad lítica del suero es determinante para la virulencia en algunas infecciones. Aislados clínicos de *M. catarrhalis* son altamente resistentes al suero, y esto se logra principalmente mediante el secuestro de reguladores del complemento para inhibir la formación de MAC, como se ha mencionado anteriormente.

M. catarrhalis recluta vitronectina a partir de suero y en última instancia inhibe el montaje de la C5b-C7 de polimerización de complejos y de C9. Además, *M. catarrhalis* utiliza la proteína de unión a C4b (C4BP) para inhibir la vía clásica de activación del complemento. Asimismo, se une al factor H, uno de los reguladores de la vía alternativa e interactúa directamente con el complemento. Estas estrategias ayudan a aumentar su supervivencia bacteriana.

CARACTERIZACIÓN

Género *Veillonella*

Taxonomía

Dominio: *Bacteria*

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Negativicutes*

Orden: *Vellionellales*

Familia: *Veillonellaceae*

Género: *Veillonella*

Fuente: Bergey's Manual® (2012)

Generalidades

El género *Veillonella* fue nombrado en la década de 1930 por el microbiólogo francés A. R. Prévot en honor a Veillon y Zuber, quienes en 1898 aislaron a la especie *Veillonella párvula* y erróneamente designaron como *Staphylococcus parvulus* (Carlier, 2015).

Las especies de *Veillonella* son bacterias Gram negativas que se caracterizan por presentar forma de cocos dispuestos en pares (diplococos), son anaerobias estrictas que forman parte de la microbiota normal de los tractos oral, genitourinario, respiratorio e intestinal de humanos y animales.

Veillonella spp. son causas raras de infecciones graves como meningitis, osteomielitis, infección de prótesis articular, infección pleuropulmonar, endocarditis y bacteriemia.

Especies

El género *Veillonella* contiene 13 especies: *V. párvula*, *V. dispar*, *V. rogosae*, *V. tobetsuensis*, *V. alcalescens*, *V. atypica*, *V. caviae*, *V. denticariosi*, *V. infantium*, *V. rodentium*, *V. ratti*, *V. cricetti*, y *V. montpellerensis* de las cuales las 5 primeras han sido aisladas de la cavidad oral humana (Casas *et al.*, 2014) (**Tabla 7**).

Morfología

Veillonella spp. son un grupo de bacterias gram negativas con forma de cocos dispuestos en pares, son anaerobias facultativas, inmóviles, no formadoras de esporas (Actor, 2012).

Metabolismo

Producen propionato, acetato y CO₂ como los principales productos finales de la fermentación de glucosa, lactato y glicerol (Spector, 2009; Scheiman *et al.*, 2019).

El metabolismo del lactato puede definir el grado de acidez de la placa dental y por su afinidad por el mismo, se ha sugerido que los cocos del Género *Veillonella* podrían contrarrestar la formación de caries dental (Briceño *et al.*, 2008), esto es porque la reducción de la carga acidógena de la placa dental se logra al convertir intermediarios metabólicos y productos finales de otras bacterias, tales como ácido láctico y piruvato, en ácidos orgánicos más débiles (De Ferro *et al.*, 2005).

Son estos productos metabólicos los que les permiten desarrollarse anaeróbicamente y cohabitar en ambientes aeróbicos.

Presentan resistencia a los antibióticos tetraciclina, eritromicina, gentamicina y kanamicina pero son sensibles a penicilina G, cefalotina y clindamicina.

Hábitat

Veillonella spp. forman parte de la microbiota normal de los tractos oral, respiratorio, gastrointestinal, y urogenital (Marchandin, 2003; Marriott *et al.*, 2006; Actor, 2012).

Constituyen una fracción muy importante de la población bacteriana total de las superficies epiteliales de la cavidad oral del hombre, siendo los anaerobios más numerosos aislados en muestras de saliva. En la boca edéntula, habitan la lengua y la mucosa bucal y en la boca dentada se encuentran en la placa dental (De Ferro *et al.*, 2005).

Su presencia en el tracto respiratorio se debe a que forma parte de la microbiota normal del hombre, esto quiere decir que se produce vía intraútero a través de la placenta, y se modifica después a través de la alimentación, actividad física, uso de antibióticos, geografía, etc.; a su vez, la continuidad anatómica del tracto respiratorio inferior y superior posibilita una vía de transporte y alojamiento hacia las vías aéreas inferiores (García-Pachón, 2017).

En estudios de Dickson *et al.* (2015) y Rivero (2017) se ha demostrado que la microbiota pulmonar se parece a la microbiota orofaríngea y está a la microbiota de la cavidad oral, la cual viene dada por las frecuentes microaspiraciones documentadas en individuos sanos y que son más frecuentes durante el proceso salud-enfermedad.

En cuanto a su presencia en el tracto gastrointestinal, la microbiota bacteriana por especies de este género se adquiere poco después del nacimiento, pues inicialmente, diversos géneros de aerobios colonizan el tubo digestivo, sobre todo enterobacterias tipo *Escherichia coli* y diversas especies del género *Lactobacillus*, las cuales consumen el oxígeno de dicho nicho y progresivamente, van estableciendo un microsistema apto para especies anaerobias como *Bacteroides*, *Clostridia*, *Eubacteria*, *Bifidobacteria* y *Veillonella* (Benaprés y Guarner, 2003; Tapia, 2002).

Tabla 7. Especies de <i>Veillonella</i>					
Humanos					Animales
Cavidad oral	Orofaringe	Tracto Respiratorio	Tracto gastrointestinal	Tracto urogenital	
<i>V. dispar</i> , <i>V. parvula</i> , <i>V. atypica</i> , <i>V. montpellierensis</i> , <i>V. denticariosi</i> <i>Veillonella rogosae</i>	<i>Veillonella</i> spp.	<i>Veillonella</i> spp.	<i>V. parvula</i> , <i>Veionella</i> spp.	<i>V. parvula</i> , <i>Veionella</i> spp.	Roedores <i>V. criceti</i> , <i>V. rattii</i> , <i>V. rodentium</i> y <i>V. caviae</i>

Fuente: Bhatti y Frank, 2000; Marchandin, 2003; Marriott *et al.*, 2006; Briceño *et al.*, 2008; Meisel y Grice, 2017; Shrestha *et al.*, 2019

Infecciones asociadas al género *Veillonella*

Veillonella spp. se han aislado en infecciones orales, heridas en piel, infecciones de los pulmones, de los senos, corazón, hueso, sistema nervioso central (SNC) y en casos de artritis séptica y meningitis (Bahrani *et al.*, 2008; Sanchén *et al.*, 2010; Actor, 2012), siendo agentes raros de dichas infecciones (Bhatti y Frank, 2000), esto es porque raramente causan infecciones locales o diseminadas, y cuando se les aísla de casos clínicos, siempre es en infecciones polimicrobianas (De Ferro *et al.*, 2005) y asociadas con condiciones debilitantes, por ejemplo, se ha observado la abundancia elevada de *Veillonella* spp. en pacientes que padecen infecciones asociadas con afecciones como la inmunodeficiencia (Marriott *et al.*, 2006). Aunado a ello *Veillonella* spp. a menudo se confunden con la gonorrea, infección gonocócica causada por *Neisseria gonorrhoeae*.

Asimismo, en la mayoría de los informes clínicos de infección por *Veillonella*, los aislamientos no se han identificado a nivel de especie. Solo ha habido tres informes previos de discitis confirmada por *V. parvula* u osteomielitis vertebral y un informe de un caso causado por una *Veillonella* spp. (Marriott *et al.*, 2006)

Como se ha abordado en las líneas de este apartado, sí existe un papel de las especies de *Veillonella* en la enfermedad, pero no se ha establecido claramente (aunque se han aislado de una variedad de condiciones clínicas). Por tal motivo se consideran como un componente menor de las infecciones anaeróbicas mixtas, y la quimioterapia antimicrobiana no se dirige específicamente contra ellas (Allaker, 2012; Casas *et al.*, 2014).

Ecología microbiana

El género *Veillonella* es uno de los “primeros colonizadores tardíos” de la cavidad oral del hombre y se encuentra en elevado número en diferentes sitios en niños y adultos. La importancia de su presencia en los ecosistemas bucales está relacionada con el mantenimiento de la homeostasis y la capacidad que poseen de neutralizar los ácidos producidos por los microorganismos cariogénicos. Por ello,

Veillonella spp. se consideran microorganismos benéficos y, desde el punto de vista odontológico, su aislamiento y recuento puede ser una herramienta útil en el diagnóstico y evaluación de programas preventivos orientados al mantenimiento de la salud oral. (De Ferro *et al.*, 2005)

Su distribución en la cavidad oral está relacionada con la presencia de otras especies y con la presencia de ácidos grasos debido a que metabolizan lactato y succinato, reducen la cisteína, cistina, tiosulfato y dan lugar a la formación de radicales sulfhídricos (Briceño *et al.*, 2008) los cuales ocupan para su crecimiento y desarrollo.

La colonización microbiana inicial de *Veillonella* spp, es resultado de la adherencia bacteriana a las superficies orales y es independiente de la presencia de dientes erupcionados. Sin embargo, esta adherencia de *Veillonella* spp. a los tejidos del huésped y a hidroxiapatita (compuesto inorgánico de los huesos y dientes) cubierta con saliva es poco eficaz, por ello participan en coagregaciones interbacterianas, un modo por el cual se fijan vía la unión secundaria a otras bacterias capaces de realizar adhesión primaria (De Ferro *et al.*, 2005).

Una vez que han colonizado tienden a persistir en dicho ambiente junto a otras bacterias anaerobias gram negativas como *Fusobacterium* spp., *Streptococcus* spp, *Actinomyces* spp, *Bifidobacterium* spp. y *Lactobacillus* spp. (Bravo 2016), en donde actúan como colonizadores secundarios de la placa dental y se vuelven prominentes durante un periodo de 7-10 días. Se interrelacionan también con bacterias gram positivas debido a que expresan adhesinas específicas para éstas.

Esta red de interacciones entre colonizadores primarios y secundarios establece una comunidad compleja de bacterias que se comunican a través de una matriz extracelular llamada biofilm.

Dentro de esta estructura funcional, la interacción más significativa que ocurre es la comunicación. Esta es posible debido a la proximidad física cercana de las bacterias. Un ejemplo de ello, es la comunicación metabólica entre *Streptococcus* spp. y *Veillonella* spp. en la placa dental.

Chalmers *et al.*, (2008) realizaron un estudio en el que caracterizó a *Streptococcus* spp. y *Veillonella* spp. a partir de muestras de placa dental y descubrió que *Veillonella* spp. solo creció cuando *Streptococcus* spp. estuvo presente, esto se explica porque *Streptococcus* spp. produce ácido láctico que es indispensable para el crecimiento de *Veillonella* spp. (Abramian 2011, Swearingen 2013).

El lactato es un producto del metabolismo celular que puede acumularse cuando las células carecen de suficiente oxígeno. Cuando se acumula en los músculos, produce un detrimento del rendimiento deportivo e incluso daños musculares. *Veillonella* metaboliza el ácido láctico producido por el ejercicio y lo convierte en propionato, un ácido graso de cadena corta (AGCC) que el cuerpo humano utiliza para mejorar el rendimiento físico (Scheiman *et al.*, 2019). Se estima que, en individuos sanos, la relación molar de AGCC (ácido acético, propiónico y butírico) es 60:25:15 y permanece relativamente estable (Yamada *et al.*, 2015).

Los AGCC controlan la producción de células T helper, anticuerpos, citocinas y contribuyen al mantenimiento de la homeostasis de la mucosa intestinal (Morrison y Preston, 2016), pero su efecto va más allá de un efecto local en el intestino, el enterocito o en la función digestiva, pues tiene una función significativa en la inmunidad intestinal tanto sistémica como local (Koh *et al.*, 2016). Respecto a su efecto antiinflamatorio, los AGCC modulan la quimiotaxis de las células inmunes, liberando especies reactivas del oxígeno (ROS, de su sigla en inglés reactive oxygen species) y citocinas. Además, se propone que podrían tener un efecto regulador clave en las enfermedades inflamatorias por ejercer un control en la migración de las células inmunes hacia el sitio de la inflamación y modulación de su actividad, posibilitando la eliminación rápida de patógenos (Agudelo-Ochoa *et al.*, 2017).

Mecanismos de virulencia

Las infecciones causadas por bacterias anaerobias son generalmente polimicrobianas e involucran a anaerobios estrictos, anaerobios facultativos y aerobios estrictos. Las Bacterias Gram negativas anaerobias (BGNA) raramente causan infecciones por sí mismos.

A consecuencia de esto y debido a la falta de un número adecuado de informes sobre *Veillonella* como patógeno, no hay muchos datos en la literatura que describan las estrategias de virulencia de este género en las distintas infecciones.

A continuación, se mencionan los mecanismos de virulencia del género *Veillonella* que corresponden a los mecanismos de las bacterias gram negativas en general.

Capsula	Protege a la bacteria de la respuesta inflamatoria del hospedero, así como a la activación del complemento y la muerte mediada por fagocitosis.
<i>Presencia de fimbrias</i>	Encargadas de proveer una mayor capacidad de adhesión al microorganismo, interviniendo en el proceso de adhesión, agregación y congregación interbacteriana.
<i>Presencia de adhesinas</i>	Moléculas que interactúan con un receptor proteico o polisacárido ubicado en otra bacteria.
<i>Resistencia a antibióticos</i>	Aspecto particular de la evolución natural de las bacterias, que se da bajo la utilización de productos antibacterianos, con el tiempo limita de forma progresiva las posibilidades de emplear antibióticos en tratamientos y que estos sean eficaces.
<i>Formación de biofilms.</i>	Importantes no sólo para el desarrollo de infecciones agudas y crónicas y el aumento a la resistencia de las bacterias frente a los antibióticos, a los desinfectantes y a la respuesta inmunológica del hospedador, tiene un papel protector que confiere los requerimientos necesarios

(agua, nutrientes, enzimas, etc.) a las bacterias para su crecimiento y desarrollo.

*Relaciones de
sinergismo*

La coexistencia con la microbiota aeróbica conlleva una situación de sinergismo en el sitio de la infección. Las bacterias aerobias consumen el oxígeno, promoviendo las condiciones apropiadas para el desarrollo de los anaerobios.

I. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

B. RELACIONES INTRA E INTERESPECÍFICAS DE LOS GÉNEROS BACTERIANOS: *PREVOTELLA*, *NEISSERIA*, *MORAXELLA* Y *VEILLONELA* CON OTROS GÉNEROS PRESENTES EN EL MICROBIOMA PULMONAR DE LA TB

Las siguientes tablas muestran una base de datos que integra diferentes estudios que han intentado caracterizar la composición y diversidad de la microbiota del esputo en la infección por tuberculosis mediante el uso de técnicas de secuenciación de diferentes regiones del gen ARNr 16S.

Tabla 8. Composición microbiana del esputo en pacientes con tuberculosis pulmonar y controles sanos (Modificado de ©German Paredes, Laboratorio de Farmacogenómica del INMEGEN)

Autor/Año	DOI	País	Región 16S o Metagenoma	Tipo de Muestra	CONTROL			TB				
					Rel. Abundance		Rel. Abundance		Rel. Abundance			
					Filum	Género	Filum	Género	Filum	Género		
Cui et al., 2012	10.1186/1471-2180-12-276	CHINA	V3 16S rRNA	Espuo	Bacteroidetes	29.01%	Streptococcus	=	Bacteroidetes	7.64%	Streptococcus	=
					Proteobacteria	16.37%	Neisseria	C	Proteobacteria	17.99%	Neisseria	R
					Firmicutes	37.02%	Prevotella	=	Firmicutes	41.62%	Prevotella	=
					Actinobacteria	2.89%	Granicatella	=	Actinobacteria	21.20%	Granicatella	=
					Crenarchaeota	3.16%	Acinomyces	=	Crenarchaeota	7.50%	Acinomyces	=
							Veillonella	=			Veillonella	=
							Anoxybacillus	↓			Anoxybacillus	↑
							Klebsiella	↓			Klebsiella	↑
							Acinetobacter	↓			Acinetobacter	↑
							Pilbacter	↓			Pilbacter	↑
							Abiotrophia	↓			Abiotrophia	↑
							Paucisalibacillus	↓			Paucisalibacillus	↑
							Rothia	↓			Rothia	↑
							Porphyromonas	C			Porphyromonas	R
							Parvimonas	C			Parvimonas	R
							Campylobacter	C			Campylobacter	R
							Haemophilus	C			Haemophilus	R
							Fusobacterium	C			Fusobacterium	R
											Phenylobacterium	eTB
											Stenotrophomonas	eTB
											Caulobacter	eTB
											Cupriavidus	eTB
											Pseudomonas	eTB
						Thermus	eTB					
						Sphingomonas	eTB					
						Brevundimonas	eTB					
						Pelomonas	eTB					
						Acidovorax	eTB					
						Brevibacillus	eTB					
						Methylobacterium	eTB					
						Diaphrobacter	eTB					
						Comamonas	eTB					
						Mobilicoccus	eTB					
						Fervidococcus	eTB					
						Serpens	eTB					
						Lactobacillus	eTB					
						Thermobacillus	eTB					
						Auridibacter	eTB					
						Deinococcus	eTB					
						Devriesea	eTB					

≈ Similar ↑ Mas abundante ↓ Menos abundante C Común R Raro eTB Exclusivo de enfermos de tuberculosis ND No disponible

Tabla 8. Composición microbiana del esputo en pacientes con tuberculosis pulmonar y controles sanos (Modificado de ©German Paredes, Laboratorio de Farmacogenómica del INMEGEN)

Autor/Año	DOI	País	Region 16S o Metagenoma	Tipo de Muestra	CONTROL				TB			
					Rel. Abundance		Género		Rel. Abundance		Género	
					Filum				Filum			
<u>Wu et al., 2013</u>	10.1371/journal.pone.0083445	CHINA	V1-V2 (454 Sequencing)	Espudo	Bacteroidetes	↑	Prevotella	60%	Bacteroidetes	↓	Prevotella	16%
					Proteobacteria	≈	Streptococcus	20%	Proteobacteria	≈	Streptococcus	36%
					Firmicutes	↓	Neisseria	20%	Firmicutes	↑	Neisseria	24%
					Actinobacteria	↓			Actinobacteria	↑	Veillonella	ND
					Fusobacteria	≈			Fusobacteria	≈	Alcaligenes	ND
					Spirochaetes	≈			Spirochaetes	≈	Lautropia	ND
											Leptotrichia	ND
											Achromobacter	ND
											Lactobacillus	ND
											Pseudomonas	ND
											Rothia	ND
											Stenotrophomonas	ND
											Granulicatella	ND
						Bargeyella	ND/eTB					
						Sharpea	ND/eTB					

≈ Similar ↑ Mas abundante ↓ Menos abundante C Común R Raro eTB Exclusivo de enfermos de tuberculosis ND No disponible

Tabla 8. Composición microbiana del esputo en pacientes con tuberculosis pulmonar y controles sanos (Modificado de ©German Paredes, Laboratorio de Farmacogenómica del INMEGEN)

Autor/Año	DOI	País	Region 16S o Metagenoma	Tipo de Muestra	CONTROL				TB							
					Rel. Abundance		Género		Rel. Abundance		Género					
					Filum		Género		Filum		Género					
Cheung et al., 2013	10.1371/journal.pone.0064574	CHINA	VI-V2 (454 Sequencing)	Espudo	Bacteroidetes	17.0%	Prevotella	14.4%	Bacteroidetes	19.2%	Prevotella	16.8%				
					Proteobacteria	21.7%	Streptococcus	31.8%	Proteobacteria	31.2%	Streptococcus	27.8%				
					Firmicutes	43.6%	Neisseria	22.0%	Firmicutes	37.6%	Neisseria	28.0%				
					Actinobacteria	≈	Veillonella	↓	Actinobacteria	≈	Veillonella	↑				
					Fusobacteria	≈	Rothia	↑	Fusobacteria	≈	Rothia	↓				
									Pseudomonas	↑					Pseudomonas	↓
									Porphyromonas	≈					Porphyromonas	≈
									Leptotrichia	↑					Leptotrichia	↓
									Lactococcus	↑					Lactococcus	↓
									Haemophilus	↓					Haemophilus	↑
									Granulicatella	↑					Granulicatella	↓
Gemella	↓	Gemella	↑													
Fusobacterium	↓	Fusobacterium	↑													
Actinomyces	↓	Actinomyces	↑													
Botero et al 2014	10.1186/2049-2618-2-2	COLOMBIA	V1-V2 16S rRNA	Espudo	Bacteroidetes	ND	Neisseria	↑	Bacteroidetes	11.0%	Neisseria	↓				
					Actinobacteria	ND					Actinobacteria	9%				
					Fusobacteria	ND					Fusobacteria	4%				
Krishna et al., 2016	10.1007/s10096-016-2654-4	INDIA	V6-V7 16S rRNA	Espudo	Bacteroidetes	ND	Prevotella	ND	Bacteroidetes	ND	Prevotella	ND				
					Proteobacteria	ND	Streptococcus	↓	Proteobacteria	ND	Streptococcus	↑				
					Firmicutes	↓	Neisseria	↓	Firmicutes	↑	Neisseria	↑				
					Actinobacteria	↓	Veillonella	↓	Actinobacteria	↑	Veillonella	↑				
					Fusobacteria	ND	Haemophilus	↑	Fusobacteria	ND	Haemophilus	↓				
					Spirochaetes	ND					Spirochaetes	ND				

≈ Similar ↑ Mas abundante ↓ Menos abundante C Común eTB Exclusivo de enfermos de tuberculosis ND No disponible

Tabla 8. Composición microbiana del esputo en pacientes con tuberculosis pulmonar y controles sanos (Modificado de ©German Paredes, Laboratorio de Farmacogenómica del INMEGEN).

Autor/Año	DOI	País	Region 16S o Metagenoma	Tipo de Muestra	CONTROL				TB			
					Rel. Abundance				Rel. Abundance			
					Filum		Género		Filum		Género	
Sala et al., 2020	10.1371 / journal.pone.0240250	Suiza	V1-V2 16S rRNA	Esputo	Bacteroidetes	↑	ND	ND	Bacteroidetes	↓	ND	ND
					Proteobacteria	≈	ND	ND	Proteobacteria	≈	ND	ND
					Firmicutes	↓	ND	ND	Firmicutes	↑	ND	ND
					Actinobacteria	≈	ND	ND	Actinobacteria	≈	ND	ND
					Fusobacteria	≈	ND	ND	Fusobacteria	≈	ND	ND
		Italia	V1-V2 16S rRNA	Esputo	Bacteroidetes	↑	ND	ND	Bacteroidetes	↓	ND	ND
					Proteobacteria	≈	ND	ND	Proteobacteria	≈	ND	ND
					Firmicutes	↓	ND	ND	Firmicutes	↑	ND	ND
					Actinobacteria	≈	ND	ND	Actinobacteria	≈	ND	ND
					Fusobacteria	≈	ND	ND	Fusobacteria	≈	ND	ND
					Spirochaetes	≈	ND	ND	Spirochaetes	≈	ND	ND
		Bangladesh	V1-V2 16S rRNA	Esputo	Bacteroidetes	↑	ND	ND	Bacteroidetes	↑	ND	ND
					Proteobacteria	≈	ND	ND	Proteobacteria	≈	ND	ND
					Firmicutes	↓	ND	ND	Firmicutes	↓	ND	ND
					Actinobacteria	≈	ND	ND	Actinobacteria	≈	ND	ND
					Fusobacteria	≈	ND	ND	Fusobacteria	≈	ND	ND
Spirochaetes	≈				ND	ND	Spirochaetes	≈	ND	ND		
Tenericutes	↓				ND	ND	Tenericutes	↑	ND	ND		

≈ Similar ↑ Mas abundante ↓ Menos abundante C Común R Raro eTB Exclusivo de enfermos de tuberculosis ND No disponible

Por medio de la **Tabla 8** es posible proponer que géneros bacterianos co-existen durante el curso de la enfermedad por *Mycobacterium tuberculosis*. En este estudio se descarta la posibilidad de establecer relaciones concretas debido a que los datos no son funcionales para determinar con certeza tales interrelaciones.

Los estudios de Cui *et al.*, (2012), Wu *et al.* (2013), Cheung *et al.*, (2013), Botero *et al.* (2014) y Krishna *et al.* (2016) refieren la coexistencia de *M. tuberculosis* con *Neisseria*, *Prevotella*, *Veillonella* y *Streptococcus* principalmente, aunque también puede relacionarse con *Haemophilus*, *Rothia*, *Pseudomonas*, *Granulicatella* y raramente con *Actinomyces*, *Leptotrichia*, *Fusobacterium*, *Lactobacillus*, *Porphyromonas* y *Stenotrophomonas*..

Coexistencia de *M. tuberculosis* con los principales géneros del microbioma pulmonar en la TB.

Tabla 9. ABUNDANCIAS RELATIVAS DEL GÉNERO <i>PREVOTELLA</i> EN LA MICROBIOTA DE ESPUTO DE ENFERMOS CON TB Y GRUPO CONTROL.										
Género	ESTUDIOS									
	Cui <i>et al.</i> , 2012		Wu <i>et al.</i> , 2013		Cheung <i>et al.</i> , 2013		Botero <i>et al.</i> , 2014		Krishna <i>et al.</i> , 2016	
	T B	Contro I	TB	Contro I	TB	Contro I	TB	Contro I	TB	Contro I
<i>Prevotella</i>	=	=	16 %	60%	16.80 %	14.40%	N D	ND	N D	ND
<i>Neisseria</i>	R	C	24 %	20%	28.00 %	22.00%	↑	↑	↑	↓
<i>Veillonella</i>	=	=	↑	↓	↑	↓	N D	ND	↑	↓
<i>Streptococcus</i>	=	=	36 %	20%	27.80 %	31.80%			↑	↓

- *Prevotella*

La proporción de la abundancia relativa (ver **Tabla 9**) de este género demuestra gran heterogeneidad. Wu *et al.* (2013) encontró mayor abundancia de *Prevotella* en el grupo control (60%) en comparación con el grupo de TB (16%), por el contrario, Cheung *et al.*, (2013) halló mayor abundancia en el grupo de TB (16.8%) que en el grupo control

(14.4%) y Cui *et al.*, (2012) no menciona las cifras, pero refiere que la abundancia en ambos grupos fue similar. Datos preliminares del laboratorio muestran un 11 y 6% de *Prevotella* en pacientes con TB y voluntarios sanos respectivamente (ESH comunicación personal) (Ver **Anexo 1**)

Estas diferencias reflejan la gran variedad de los estudios en cuanto a tamaños de muestra significativamente diferentes y al que analizaron diferentes regiones del gen ARNr 16S.

Block (2019), señala que la destrucción tisular e inflamación del pulmón en enfermedades como la fibrosis quística y la tuberculosis promueven el aumento del crecimiento del comensal *Prevotella*, un comensal bacteriano que prospera en condiciones inflamatorias. Peña *et al.*, (2007) sugieren que la abundancia de *Prevotella* en casos de inflamación aumenta cuando se encuentra con *Klebsiella* y *Porphyromonas*, bacterias que producen vitamina K1, que es un factor de crecimiento de *Prevotella*, lo cual es consistente con los resultados de Cui *et al.*, (2012), Cheung *et al.*, (2013) y los obtenidos por nuestro propio laboratorio, en los que se halló la presencia de *Prevotella* junto a los géneros antes mencionados.

- ***Neisseria***

En la mayoría de los estudios referidos (ver **Tabla 9**) Wu *et al.*, 2013, Cheung *et al.*, (2013), Botero *et al.*, (2014) y Krishna *et al.*, (2016) se encontró una tendencia de aumento en los enfermos de TB comparado con el grupo control. Únicamente en el estudio de Cui *et al.*, 2012 identificó al género *Neisseria* como raro en las muestras de esputo de los enfermos con TB.

Pese a que *Neisseria* se ha aislado en infecciones broncopulmonares (neumonía) y enfermedades respiratorias (tuberculosis) no se conoce la verdadera incidencia que tiene este género en las infecciones respiratorias.

Simón (2012), menciona que las especies de *Neisseria* no se consideran patógenos aun cuando se les aisle en procesos infecciosos. Esto es debido a que *Neisseria* coloniza la nasofaringe de neonatos desde los primeros días de vida, a través del contacto con la madre y principalmente por el personal del hospital. Yubini *et al.*,

(2018), remarca que aunque son parte de la microbiota residente destacan en cuadros infecciosos como meningitis, con o sin meningococemia y neumonía.

Medina y colaboradores (2017), sugieren que *Neisseria* no necesita establecer relaciones interespecíficas para persistir, pues es capaz de sobrevivir y proliferar en el torrente circulatorio y ambientes inflamatorios, evitando las defensas humorales y celulares.

La diseminación de los microorganismos hasta los ganglios linfáticos regionales, y produce adenopatías que con frecuencia se vuelven prominentes durante la tuberculosis; además de la diseminación hasta los ganglios regionales, los gérmenes también pueden pasar al torrente sanguíneo (y, por tanto, a los tejidos extrapulmonares) (Fraser *et al.*, 2006) no obstante la diseminación de microorganismos a través de la sangre también puede darse en fases precoces de la enfermedad (Granados, 2014) En contraste, *Neisseria meningitidis* se ha aislado en sangre (Leon *et al.*, 2019) y en muestras de esputo purulento.

Por otra parte *N. meningitidis* durante la infección natural, o la administración de antígenos, origina una respuesta inmune más o menos intensa; en adultos los niveles de anticuerpos varían de acuerdo con los serogrupos, pues los polisacáridos capsulares de los serogrupos A y C son buenos inmunógenos, mientras que el polisacárido capsular del grupo B es pobre desde el punto de vista inmunogénico. Su pobre inmunogenicidad está relacionada con su semejanza con los antígenos del ser humano (Guillem, 2012). La cápsula del serogrupo B está compuesta por ácido siálico, presente en células neuronales embrionarias humanas, que puede generar autoinmunidad e inducir tolerancia inmunológica (Alberca, 2018).

- ***Veillonella***

Otro género encontrado en muestras de esputo tanto en enfermos con TB y controles sanos, es *Veillonella*. La abundancia relativa (ver **Tabla 9**) en ambos grupos es estrictamente difícil de evaluar debido a que ninguno de los estudios reporta cifras sobre la proporción del género. Los datos de índole cualitativa, refieren la somera presencia-ausencia de *Veillonella*. De los 5 estudios, revisados, Cheung

et al., 2013, Wu *et al.*, 2013 y Krishna *et al.*, 2016 refieren mayor dominancia de *Veillonella* en enfermos con TB, respecto a su grupo control, Cui *et al.*, 2012 no encontró diferencias significativas en ninguno de los dos grupos de estudio, y Botero *et al.*, 2014 no encontró la presencia de *Veillonella* en ninguno de los dos casos. En nuestro laboratorio identificamos una mayor prevalencia de *Veillonella* en individuos sanos (3% vs 10%) (ESH comunicación personal, Ver **Anexo 1**).

Estudios de García (2015), Actor (2012), Marriott *et al.* (2006) y Marchandin (2003) mencionan que las *Veillonella* spp. forman parte de la microbiota normal de los tractos oral, respiratorio, gastrointestinal, y urogenital. García (2015) y Ferro *et al.*, (2005) señalan que es común hallarlos en muestras de saliva. Chalmers *et al.*, (2008) sugiere que es común hallarlo junto a *Streptococcus* spp. A este respecto, Abramian (2011) y Swearingen (2013) manifiestan que la relación *Veillonella-Streptococcus* se explica porque *Streptococcus* spp. produce ácido láctico que es indispensable para el crecimiento de *Veillonella* spp.

El ácido láctico se produce principalmente en las células musculares y en los glóbulos rojos. La producción aproximada de lactato es de 1.400 mmol/día de los cuales el 25% se produce en el músculo esquelético, 25% en la piel, 20% en el cerebro, 20% en los hematíes y 10% en el intestino. En los pacientes en estado crítico la producción de lactato puede realizarse también en sitios diferentes de los habituales, por ejemplo, el pulmón y sitios de infección-inflamación (Montalvo *et al.*, 2018).

Esto explicaría el hecho de la prominente abundancia de *Veillonella* en pacientes que padecen infecciones asociadas con inflamación, sumándose como otro factor de crecimiento de las *Veillonella* spp. aparte de la presencia de *Streptococcus* spp.

Por estudios de Yamada *et al.*, (2015), Morrison y Preston (2016), Koh *et al.* (2016 y Agudelo-Ochoa *et al.*, (2017) *Veillonella* se considera un simbiote importante en el microbioma gastrointestinal (GI), dado que es capaz de metabolizar el ácido láctico y convertirlo en propionato, un ácido graso de cadena corta (AGCC). Los AGCC, actualmente están tomando relevancia debido a que en los pocos estudios que se

han realizado han demostrado tener un efecto protector frente a enfermedades metabólicas y efectos antiinflamatorios no solo a nivel regional.

- ***Streptococcus***

De los 5 estudios, revisados (ver **Tabla 9**), sólo en el estudio de Botero *et al.* (2014), no se halló la presencia de *Streptococcus*. En, Wu *et al.*, (2013) y Krishna *et al.*, (2016) hubo mayor dominancia del género en enfermos con TB, respecto a su grupo control, Cui *et al.*, (2012) reporta abundancias similares en ambos grupos de estudio, y Cheung *et al.*, (2013) obtuvo mayor dominancia de *Streptococcus* en su grupo control en contraste con el grupo TB.

Leoni *et al.*, (2011) mencionan que bacterias como *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis* y *S. aureus*, son microbiota normal de la faringe y participan en la etiología de otras infecciones del tracto respiratorio. Este dato es consistente con Moreno *et al.*, (2016) quienes refieren que existen más de 100 especies de *Streptococcus*, muchos de los cuales son comensales de la cavidad oral y nasofaringe.

Montes y Arenzana (2007) y Noda *et al.*, (2011), mencionan que *Streptococcus pneumoniae* es el agente causal más frecuente en la neumonía comunitaria. Marriet *et al.*, (2005) estudiaron 500 pacientes del medio comunitario y encontraron que los microorganismos más frecuentes son: *Mycoplasma pneumoniae* 15%, *Chlamydia pneumoniae* 12%, *Streptococcus pneumoniae* 5,9% y *Haemophilus influenzae* 4,9%.

Spellerberg y Brandt (2015) explican dado la ubicación de S. en el tracto respiratorio superior, éste se transmite con facilidad de persona a persona a través de las gotitas de saliva y que su difusibilidad aumenta durante el curso de infecciones respiratorias con presencia de tos y aumento de las secreciones.

Los estudios anteriores, refieren que *Streptococcus* es un microorganismo frecuente en la microbiota del hombre, esto explica, porque en los estudios de Cui *et al.* (2012), Wu *et al.* (2013), Cheung *et al.* (2013) y Krishna *et al.* (2016) se halló la presencia de significativa de este género *Streptococcus*.

Finalmente, es importante señalar que al comparar la microbiota de esputo de pacientes con tuberculosis con su grupo control Cui *et al.*, (2012) y Wu *et al.*, (2013), identificaron como géneros exclusivos del microbioma de enfermos con TB a *Bargeyella*, *Sharpea*, *Phenylobacterium*, *Stenotrophomonas*, *Caulobacter*, *Cupriavidus*, *Thermus*, *Sphingomonas*, *Brevundimonas*, *Pelomonas*, *Acidovorax*, *Brevibacillus*, *Methylobacterium*, *Diaphorobacter*, *Comamonas*, *Mobilicoccus*, *Fervidicoccus*, *Serpens*, *Thermobacillus*, *Auritidibacter*, *Deinococcus* y *Devriesea*.

Estos géneros permanecen como un desafío que deben ser abordados para lograr proponer un perfil de la microbiota de enfermos con tuberculosis y con ello innovar un control efectivo de la enfermedad.

Tabla10. ABUNDANCIAS RELATIVAS A NIVEL FILO DE LA MICROBIOTA DE ESPUTO DE ENFERMOS CON TB Y SU GRUPO CONTROL

FILO	ESTUDIOS									
	Cui <i>et al.</i> , 2012		Wu <i>et al.</i> , 2013		Cheung <i>et al.</i> , 2013		Botero <i>et al.</i> , 2014		Krishna <i>et al.</i> , 2016	
	TB	Control	TB	Control	TB	Control	TB	Control	TB	Control
Bacteroidetes	7.64%	29.01%	↓	↑	19.2%	17.0%	11.0%	ND	ND	ND
Proteobacteria	17.99%	16.37%	≈	≈	31.2%	21.7%	9%	ND	ND	ND
Firmicutes	41.62%	37.02%	↑	↓	37.6%	43.6%	4%	ND	↑	↓
Actinobacteria	21.20%	2.89%	↑	↓	≈	≈			↑	↓
Crenarchaeota	7.5%	3.16%	≈	≈	≈	≈				
Spirochaetes			≈	≈						

Aunque estrictamente no se pueden unir los datos cuantitativamente, se observan tendencias de aumento-disminución en los diferentes filos en 3 de los 5 estudios expuestos.

En *Bacteroidetes* los estudios de Cui *et al.*, (2012) y Wu *et al.*, (2013) manifiestan una menor abundancia relativa del filo en el grupo TB, en comparación con el grupo control. Cheung *et al.*, (2013), expresa menor abundancia en el grupo control, respecto a aquellos que presentaban la enfermedad. Por su parte, Botero *et al.*, (2014) mencionan sólo proporción de la abundancia del filo en el grupo TB y Krishna *et al.*, (2016) no obtuvieron resultados para este filo.

Para el caso de *Proteobacteria*, Cui *et al.*, (2012) y Cheung *et al.*, (2013), encontraron mayor abundancia de este filo en el grupo TB, Wu *et al.*, (2013), no halló diferencias en la abundancia en ninguno de los grupos de estudio.

El filo *Firmicutes* presentó mayor abundancia en los enfermos con TB, en los estudios de Cui *et al.*, (2012), Wu *et al.*, (2013) y Krishna *et al.*, (2016), contrario a estos resultados se encuentra el estudio de Cheung *et al.*, (2013), quienes encontraron menor abundancia del filo en los enfermos con TB.

Huang y Lynch, (2011), señalan que, en sujetos sanos, los filos que predominan en el pulmón son: *Bacteroides*, *Firmicutes* y *Proteobacteria*. En los estudios abordados, efectivamente existe predominio de los filos *Bacteroides*, *Firmicutes* y *Proteobacteria*, sobre otros filos del microbioma pulmonar, como lo son: *Actinobacteria*, *Crenarchaeota* y *Spirochaetes*.

En contraste Chávez-Arias, (2018), refiere que los filos que predominan en enfermos de TB son de igual forma *Bacteroides*, *Firmicutes* y *Proteobacteria*, pero con diferencias a nivel género. En *Bacteroides* *Prevotella* y *Porphyromonas*; en *Firmicutes* *Veillonella*, *Gemella*, *Granulicatella* y *Megasphaera* y en *Proteobacteria* *Neisseria*, *Moraxella* y *Haemophilus* fueron los géneros que presentaron abundancia y disminución.

Cui *et al.*, (2012), Wu *et al.*, (2013), Cheung *et al.*, (2013), Botero *et al.*, (2014) y Krishna *et al.*, (2016), coinciden en la tendencia aumento-disminución de la abundancia de los géneros, *Prevotella*, *Neisseria* y *Veillonella*. Cui *et al.*, (2012), Wu *et al.*, (2013) y Cheung *et al.*, (2013) reportan la presencia de *Porphyromonas*, *Gemella*, *Granulicatella*, *Megasphaera* y *Haemophilus*, no obstante no se dispone de la presencia de éstos géneros en el grupo control.

I. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

C. FACTORES QUE MODIFICAN EL EQUILIBRIO DE LA MICROBIOTA PULMONAR EN PACIENTES ENFERMOS DE TUBERCULOSIS

Alteraciones en la diversidad bacteriana y el desequilibrio de la microbiota respiratoria se ven afectados por múltiples factores. Hay factores biológicos y factores sociales. Entre los factores biológicos principales se encuentran la reducción de las defensas inmunitarias, dificultad para toser, microaspiraciones y factores ambientales como el humo del tabaco, infecciones virales, tratamientos con antibióticos, geografía, etc. Dentro del aspecto social, los factores socioeconómicos como desnutrición, hacinamiento, hábitos de higiene, las condiciones generales de vida de la población influyen en el tratamiento y proceso de la enfermedad. Ambos factores modifican la historia natural de la enfermedad Tuberculosis.

En la Tuberculosis, los factores que principalmente modifican el equilibrio de la microbiota se mencionan a continuación:

Factores Biologicos

- *Personas con afecciones que debilitan el sistema inmunitario*

Los bebés y los niños pequeños a menudo tienen el sistema inmunitario inmaduro. Las personas con un sistema inmunitario inmunodeprimido presentan alguna de las siguientes afecciones:

- Infección por el VIH (el virus que causa el sida).
- Abuso de sustancias nocivas.
- Silicosis.
- Diabetes mellitus.
- Enfermedad renal grave
- Bajo peso corporal.
- Trasplante de órganos.
- Cáncer de cabeza y cuello.
- Tratamientos médicos como corticosteroides o trasplante de órganos.

- Tratamientos especializados para la artritis reumatoide o la enfermedad de Crohn.

Factores Ambientales

- Relativos a la carga bacilar
- Proximidad al caso infeccioso

Factores Sociales

- Instalaciones comunes/Viviendas
- Hacinamiento – Pobre ventilación
- Etnia/Inmigración
- Riesgo laboral
- Nivel socioeconómico

En cada enfermedad pulmonar estudiada hasta la fecha, el microbioma pulmonar se encuentra alterado en comparación con el de los controles sanos. A este respecto ha surgido la interrogante sobre la direccionalidad de la causa de la esta relación. Es decir, si la disbiosis impulsa la progresión de la enfermedad pulmonar o es simplemente una consecuencia secundaria del entorno de crecimiento alterado de los pulmones.

Dickson *et al.*, (2015), han propuesto un modelo de la interfaz huésped-microbioma al que han denominado “ciclo disbiosis-inflamación”, en este modelo los autores reconocen la bidireccionalidad de la relación de un microbioma pulmonar alterado con la respuesta del huésped, señalando que cualquier fuente de inflamación en el tracto respiratorio provoca una cascada de respuestas del huésped que alteran las condiciones de crecimiento microbiano de las vías respiratorias. El aumento de la permeabilidad de la pared de las vías respiratorias y la producción de moco introducen un suministro de nutrientes en el entorno pulmonar normalmente escaso; el moco introduce bolsas de aumento de temperatura y disminución de la tensión de oxígeno, lo que favorece selectivamente el crecimiento de microbios prominentes asociados a enfermedades.

Estos efectos múltiples sobre las condiciones de crecimiento microbiano dan como resultado una comunidad desordenada y desregulada de microbiota respiratoria.

En la tuberculosis, los estudios mencionados con anterioridad, ha evidenciado que la microbiota nativa influye en la patología de la TB. Sujetos sanos, presentan mayor dominancia de los filos *Bacteroides*, *Firmicutes* y *Proteobacteria* (*Streptococcus*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Veillonella* y *Pseudomonas*) (Huang y Lynch, 2011) y en menor proporción *Haemophilus* y *Neisseria* (Beck *et al.*, 2012), por el contrario en enfermos con Tuberculosis, los filos que predominan son también *Bacteroides* pero con diferencias a nivel género (*Prevotella*, *Porphyromonas*), *Firmicutes* (*Veillonella*, *Gemella*, *Granulicatella*, *Megasphaera*) y *Proteobacteria* (*Neisseria*, *Moraxella*, *Haemophilus*) (Chávez-Arias, 2018).

Dada la evidencia de agentes asociados con la TB, es esencial seguir trabajando para identificar y establecer los procesos que se dan durante el proceso salud enfermedad a nivel bacteriano. En nuestro país y en otros, aún son pocos los estudios que ponen de manifiesto el papel de las bacterias encontradas en muestras de esputo de TB, el conocimiento de la microbiota pulmonar está siendo foco de estudio actualmente, por ello incito a la comunidad a seguir trabajando en actualizar el papel de la etiología bacteriana en las infecciones respiratorias.

CONCLUSIONES

El análisis de la microbiota ha constituido una nueva aproximación conceptual a la complejidad de las poblaciones microbianas y sus relaciones, y aunque es todavía difícil extraer implicaciones de aplicación clínica inmediata, en este trabajo, se considera prudente seguir trabajando en definir la microbiota normal y cómo ésta influye en los procesos salud-enfermedad, para lograr determinar y proponer un perfil estándar que nos lleve a alertar que tan significativa puede ser determinada alteración. Sugiero que una mayor comprensión global del microbioma es prioritaria para generar mejores métodos de diagnóstico, mayor comprensión en la evolución de las patologías relacionadas con la microbiota, así como dar prioridad a la solución de cuestionamientos sobre las “epidemias” modernas.

De forma puntual la investigación actual puede concluir:

- Los pulmones no son estériles. Una gran diversidad de bacterias co-habitan el nicho pulmonar desde los primeros momentos de la vida.
- *Prevotella*, *Neisseria* y *Veillonella* son habitantes normales de la microbiota del tracto superior, y pueden llegar a modificar su nicho principal durante la enfermedad respiratoria.
- Aunque el género *Moraxella* no se reportó en los estudios referidos, no se descarta su co-habitancia con *Mycobacterium tuberculosis*.
- Existen asociaciones importantes dentro de la microbiota pulmonar, que vienen dadas por procesos de mutualismo.
- La constitución del microbioma pulmonar en la enfermedad juega un papel clave en el desarrollo y progreso de la enfermedad.
- La co-habitancia en el nicho pulmonar es un reflejo de las interacciones de mutualismo y exclusión de la microbiota residente pulmonar con otros géneros bacterianos.

Quedan por establecer la compleja relación entre *Mycobacterium tuberculosis* con otros géneros presentes en el microbioma pulmonar.

En esta investigación se buscaba poder establecer las relaciones intra e inter específicas de *Mycobacterium tuberculosis* con otros géneros del microbioma pulmonar, sin embargo tal objetivo requería el trabajo en laboratorio y este no pudo ser cubierto debido que las instalaciones del Laboratorio de Farmacogenómica ubicado en el INMEGEN se encuentran cerradas por la contingencia sanitaria derivada de la propagación del SARS-CoV-2.

LITERATURA CITADA

- Actor, J. K. (2012). *Bacteriología Clínica. Revisión Integrada de Elsevier Inmunología y Microbiología*, 105-120.
- Adami, A. J. y Cervantes, J. L. (2015). El microbioma en el nicho alveolar pulmonar: cómo afecta la respuesta innata humana contra *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis (Edimburgo, Escocia)*, 95 (6): 651-658.
- Aebi, C. (2011). *Moraxella catarrhalis*: ¿patógeno o comensal? En *Hot Topics in Infection and Immunity in Children VII* (págs. 107-116). Springer, Nueva York, NY.
- Agudelo-Ochoa, G. M., Giraldo-Giraldo, N. A., Barrera-Causil, C. J., y Valdés-Duque, B. E. (2017). Microbiota intestinal y ácidos grasos de cadena corta en pacientes críticos. *Perspectivas En Nutrición Humana*, 18 (2): 205-222.
- Alarcón, P., González, M. y Castro, É. (2016). Rol de la microbiota gastrointestinal en la regulación de la respuesta inmune. *Revista médica de Chile*, 144 (7): 910-916
- Alberca, S. M. C. (2018). *Neisseria meningitidis* y *Neisseria gonorrhoeae*, mecanismos de patogénesis e interés en la prevención por protección cruzada. Tesis Doctoral. Universidad Complutense, 72p.
- Alcalá V. T., Valdés, Q. M., Portales, P. R., y López, S. M.V. (2010). Tuberculosis in pharynx and larynx: case presentation. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 9 (4): 545-552.
- Alcalá, L., Betriu, C., Sánchez, J. E. G., y Reig, M. (2015). Procedimientos en Microbiología Clínica. *Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Diagnóstico Microbiológico por Clostridium difficile*. *EIMC*, 6-54.
- Alfaro, C. (2005). Patogénesis de *Neisseria meningitidis*. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 40 (2): 73-80.
- Allaker, R. P. (2012). *Anaerobios sin sporing*. *Microbiología médica*, 359–364.
- Anon, J.B. (2003). Rinosinusitis bacteriana aguda en medicina pediátrica: problemas actuales en el diagnóstico y manejo. *Medicamentos pedriaticos*, 5 (1): 25-33.

- Ariza-Andraca, R. y García-Ronquillo, M. (2016). El microbioma humano. Su papel en la salud y en algunas enfermedades. *Cirugía y Cirujanos*, 84 (Supl. 1), 31-35.
- Ávila-Casanueva, A. B. (2013). El microbioma humano. *CIENCIORAMA*, 9-13.
- Bahrani, M. F. K., Paster, B. J., Coleman, S., Ashar, J., Barbuto, S., y Lockhart, P. B. (2008). Diverse and novel oral bacterial species in blood following dental procedures. *Journal of clinical microbiology*, 46 (6): 2129-2132.
- Bartlett, J. G. (1979). Anaerobic bacterial pneumonitis. *American Review of Respiratory Disease*, 119 (1):19-23.
- Baumann, P., Doudoroff, M. y Stanier, R. Y. (1968). Estudio del Grupo *Moraxella* I. Género *Moraxella* y el Grupo *Neisseria catarrhalis*. *Journal of Bacteriology*, 95 (1) 58-73.
- Bautista, M. R. (2010). Las tres generaciones de la secuenciación. *Encuentros en la biología*, 3 (128): 27-28.
- Beck, J. M., Young, V. B., y Huffnagle, G. B. (2012). The microbiome of the lung. *Translational Research*, 160 (4): 258-266.
- Belmonte, A. (2012). Estudio de factores de patogenicidad de cepas colonizantes e infectantes de *Gardnerella vaginalis* y su asociación con bacterias anaerobias. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Médicas. UNR. Francia. 160p.
- Benaprés, J. R. M., y Guarner, F. (2003). La flora bacteriana del tracto digestivo. *Gastroenterología y hepatología*, 26 (1): 1-5.
- Benítez-Bribiesca, L. (2012). El microbioma. *Acta Médica Grupo Ángeles*, 10 (4), 220-223.
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, C. M.-C., Charles, Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., Corral, H. G., Kazou, M., Kinkel, L., Lange, L., Lima, N., Loy, A., Macklin, J. A., Maguin, E., Mauchline, T., McClure, R., Mitter, B., Ryan, M., Sarand, I., Smidt, H., Schelkle, B., Roume, H., Kiran, S. G., Selvin, J., De Souza, C. S. R., Van Overbeek, L., Singh, K. B., Wagner, M., Walsh, A., Sessitsch, A. y Schloter, M. (2020). Revisión de la definición de microbioma: viejos conceptos y nuevos desafíos. *Microbioma*, 8 (1): 2-22.

- Berkowitz, F. E., y Jerris, R. C. (2016). *Practical medical microbiology for clinicians*. Retrieved from <https://bidi.uam.mx:9155>
- Bhatti, M. A y Frank, M. O. (2000). Meningitis por *Veillonella parvula*: reporte de un caso y revisión de las infecciones por *Veillonella*. *Enfermedades infecciosas clínicas*, 31 (3): 839–840.
- Bisen, P. (2015). Potential of Microbiome Research in Respiratory Diseases. *Journal of Respiratory Research*, 1 (1): 13-14.
- Bittar, F., Richet, H., Dubus, J. C., Reynaud-Gaubert, M., Stremler, N., Sarles, J., Raoult, D., y Rolain, J. M. (2008). Molecular detection of multiple emerging pathogens in sputa from cystic fibrosis patients. *PloS one*, 3 (8): 1-7.
- Bravo, C. M. F. (2016). Presencia de factores de virulencia en miembros de la familia *Bifidobacteriaceae* aisladas desde cavidad oral de niños chilenos de 7 a 11 años. Tesis Doctoral. Facultad de Odontología. Santiago, Chile. 71p.
- Brenner, D. J., Krieg, N. R., Staley, J. T., Garrity, G. M., y Bergey, D. H. (2012). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2nd. ed.). New York: Springer, Boston, MA.
- Briceño, E., Pardi, G., y Perrone, M. (2008). Género *Veillonella* en cavidad bucal, nuevas especies reportadas. *Acta odontológica venezolana*, 46 (3): 401-402.
- Briceño, E., Pardi, G., y Perrone, M. (2009). Nuevas especies del género *Prevotella* y su importancia en el área odontológica: Revisión de la literatura. *Acta odontológica venezolana*, 47 (4):167-173.
- Brunser T, Oscar. (2013). El desarrollo de la microbiota intestinal humana, el concepto de probiótico y su relación con la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, 40 (3): 283-289.
- Borrueal, N. (2003). Interacciones bacterianas con el sistema inmunológico intestinal: inmunomodulación. *Gastroenterología y hepatología*, 26 (1): 13-22.
- Botero, L. E., Delgado, S. L., Cepeda, M. L., Bustos, J. R., Anzola, J. M., Del Portillo, P., Robledo, J. y Zambrano, M. M. (2014). Selección de muestras clínicas del tracto respiratorio para análisis de microbiota en pacientes con tuberculosis pulmonar. *Microbioma*, 2 (1): 29.

- Budden, K. F., Shukla, S. D., Rehman, S. F., Bowerman, K. L., Keely, S., Hugenholtz, P., Armstrong-James, D. P. H., Adcock, I. M., Chotirmall, S. H., Chung, K. F. y Hansbro, P. M. (2019). Functional effects of the microbiota in chronic respiratory disease. *Lancet Respir Med.*, 7 (10): 907-920.
- Burillo, A., Moreno, A., y Salas, C. (2007). Diagnóstico microbiológico de las infecciones de piel y tejidos blandos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 25 (9): 579-586.
- Caporaso, J. G., Lauber, C. L., Walters, W. A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C. A., Turnbaugh, P. J., Fjerner, N. y Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proceedings of the national academy of sciences*, 108 (Supplement 1): 4516-4522.
- Castiñeira, E. A., López, P. M. R., Pena, R. M. J. y Liñares, I. M. (2002). Manifestaciones radiológicas de la tuberculosis pulmonar. *Med Integral*, 39 (5): 192-206.
- Castrillón, R. L. E., Palma, R. A. y Macín, C. S. (2011). Papel de la lactoferrina en enfermedades periodontales. *Revista odontológica mexicana*, 15 (4): 231-238
- Castro, A. M. (2014). *Bacteriología médica basada en problemas*. 2ª Edición. México. Editorial El Manual Moderno, 344p.
- Carlier, J. P. (2015). *Veillonella*. *Manual de Bergey de Sistemática de Archaea y Bacterias*, 1–11.
- Casas, A. S., Cabrera, M. S., García, M. G., Montejo, J. M., y Perdomo, D. C. (2014). Meningoencefalitis bacteriana secundaria por *Veillonella*. Reporte de un caso. *Archivo Médico Camagüey*, 10 (6).
- Cervantes, R. M. G. y Sánchez, G. B. R. (2017). La microbiota del humano. *Ciencia*, 68 (2): 60-66.
- Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades (CENAPRECE). (2017). Tuberculosis: Estándares para la Atención de la Tuberculosis en México. Informe

- Chaiña, P. I. N. (2015). Presencia de *Prevotella* Intermedia en el surco gingival, de gestantes que acuden al servicio de obstetricia y ginecología del Hospital Manuel Nuñez Butrón, Puno 2014.
- Chalmers, N. I., Palmer, R. J., Cisar, J. O. y Kolenbrander, P. E. (2008). Caracterización de un *Streptococcus sp.*- *Veillonella sp.* Micromanipulado comunitario a partir de placa dental. *Journal of Bacteriology*, 190 (24): 8145–8154.
- Charlson, E. S., Bittinger, K., Haas, A. R., Fitzgerald, A. S., Frank, I., Yadav, A., Bushman, F. D. y Collman, R. G. (2011a). Topographical continuity of bacterial populations in the healthy human respiratory tract. *Am J Respir Crit Care Med*, 184 (8): 957-63.
- Charlson, E. S., Diamond, J. M., Bittinger, K., Fitzgerald, A. S., Yadav, A., Haas, A. R., Bushman, F. D. y Collman, R. G. (2012b). Lung-enriched organisms and aberrant bacterial and fungal respiratory microbiota after lung transplant. *Am J Respir Crit Care Med*. 186 (6): 536-45.
- Charlson, E. S., Bittinger, K., Chen, J., Diamond, J. M., Li, H., Collman, R. G. y Bushman, F.D. (2012c). Assessing bacterial population in the lung by replicate analysis and of samples from the upper and lower respiratory tracts. *PLoS One*, 7 (9): 1-12.
- Chávez-Arias, T. S. (2018). Identificación molecular de bacterias asociadas a cuadros clínicos de Tuberculosis-Arequipa. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Nacional de San Agustín AREQUIPA-Peru, 120p.
- Cheung, M. K., Lam, W. Y., Fung, W. Y. W., Law, P, T. W., Au ,C. H., Nong W., Kam, K. M., Kwan, H. S. y Tsui, S. K. W. (2013). Microbiota del esputo en la tuberculosis revelada por la pirosecuenciación del ARNr 16S. *PLoS ONE*, 8 (1): e54574.
- Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey., L. W y Knight, R. (2012). The impacto of the Gut Microbiota on Human Health: An Integrative View. *Cell*, 148 (6): 1258-1270.
- Cooke, F. J. y Slack, M. P. E. (2017). Cocobacilos Gram-negativos. *Enfermedades infecciosas*. 1611-1627.

- Costa, A. N., Costa, F. M. D., Campos, S. V., Salles, R. K., y Athanazio, R. A. (2018). Microbioma pulmonar: desafíos de um novo paradigma. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, 44 (5): 424-432.
- Cui, Z., Zhou, Y., Li, H., Zhang, Y., Zhang, S., Tang, S., y Guo, X. (2012). Complex sputum microbial composition in patients with pulmonary tuberculosis. *BMC microbiology*, 12 (1): 276.
- De Ferro, M. G., De Valladares, R. R., y De Cárdenas, I. B. (2005). Recuperación de Veillonellas a partir de saliva. *Revista Argentina de Microbiología*, 37 (1): 22-25.
- De Hematología, S. A. (2017). Fisiología de la Hemostasia Normal. *Sociedad Argentina de Hematología*. 4 (21).
- Dickson R.P., Erb-Downward J. R. y Huffnagle, G. B. El papel del microbioma bacteriano en la enfermedad pulmonar. Experto. *Rev Respir Med*. 2013; 7 (3): 245-257.
- Dickson, R. P., Erb-Downward, J. R., Freeman, C.M., McCloskey, L., Beck, J. M., Huffnagle, G. B. y Curtis, J. L. (2015). Variación espacial en el microbioma pulmonar humano sano y el modelo de isla adaptada de biogeografía pulmonar. *Anales de la American Thoracic Society*, 12 (6): 821-830.
- Dickson, R. P., Erb-Downward, J. R., Martinez, F. J. y Huffnagle, G. B. (2016). El microbioma y el tracto respiratorio. *Revisión anual de fisiología*, 78 (1): 481–504.
- De Necochea, R., y Canul, J. C. (2004). Métodos fisicoquímicos en biotecnología: Secuenciación de ácidos nucleicos. *Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México*, 48p.
- Domínguez, S. L. y Díaz, G. J. M. (2008). Enfermedades de Transmisión Sexual. *Seminario sobre medicina y salud. UNAM, México*.
- Downes, J., Hooper, S. J., Wilson, M. J., y Wade, W. G. (2008). *Prevotella histicola* sp. nov., isolated from the human oral cavity. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 58 (8): 1788-1791.

- Elias, J., Frosch, M. y Vogel, U. (2015). *Neisseria in: Jorgensen, J., Pfaller, M., Carroll, K., Funke, G., Landry, M., Richter, S. y Warnock, D. (Ed.), Manual of Clinical Microbiology, Undécima edición. ASM Press, Washington, DC*
- Embers, M.E., Doyle, L.A., Whitehouse, C.A., Selby, E.B., Chappell, M. y Philipp, M.T. (2011). Caracterización de una especie de *Moraxella* que causa epistaxis en macacos. *Microbiología veterinaria*, 147 (3-4): 367–375.
- Enders, G. (2015). La digestión es la cuestión: descubre los secretos del intestino, el órgano más infravalorado del cuerpo humano. Ed. *Urano*.
- Erb-Downward, J. R., Thompson, D. L., Han, M. K., Freeman, C. M., McCloskey, L., Schmidt, L. A., Young, V. B., Toews, G. B., Curtis, J. L., Sundaram, B., Martinez, F. J. y Huffnagle, G. B. (2011). Analysis of the Lung Microbiome in the “Healthy” Smoker and in COPD. *PLoS ONE* 6 (2).
- Escalante, A. E., Barbolla, L. J., Ramírez-Barahona, S. y Eguiarte, L. E. (2014). El estudio de la biodiversidad en la era de la secuenciación masiva. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85 (4): 1249-1264.
- Esparcia, O., y Magraner, J. (2003). *Moraxella catarrhalis* y su implicación en patología infecciosa. *Control de calidad SCEIMC*, 1-9.
- Febrer F. J. L. (2013). Albert Ludwig Neisser (1855- 1916). *Epónimos y Biografías*, 1-10.
- FIRS (Foro de las Sociedades Respiratorias Internacionales). (2017). El impacto global de la Enfermedad Respiratoria. Segunda edición. México, Asociación Latinoamericana de Tórax, 45p.
- Fraser, R. S., Colman, N., Müller, N. L., y Paré, P. D. (2006). Enfermedades infecciosas de los pulmones. *Fundamentos de las enfermedades del tórax*, 222–336.
- Foster, K. R., Schluter, J., Coyte, K. Z. y Rakoff-Nahoum, S. (2017). La evolución del microbioma huésped como ecosistema con una correa. *Nature*, 548 (7665), 43–51.
- Fundación Instituto Roche (FIR). (2018). *Informe Anticipado: MICROBIOMA*. Observatorio de tendencias de medicina personalizada de precisión. Madrid, España, 21p.

- García, M. M. (2015). La microbiota humana en diversos sitios anatómicos. *Repertorio Científico*, 18 (1): 135-138.
- García, M. J. M., Jäger, C. M. E., Yago, C. J. M., Llor, C., Gutiérrez, M. J. y Saura, P. J. (2010). Infecciones del aparato respiratorio inferior. In: Cots, J. M., Gómez, M., Mórato, M. L., y Sánchez, C. (Ed.). Manual de enfermedades infecciosas en Atención Primaria. Cap. III, pc. 63-76. Barcelona: semFYC Ediciones.
- García-Mazcorro, J. F., Garza-González, E., Marroquín-Cardona, A. G., y Tamayo, J. L. (2015). Caracterización, influencia y manipulación de la microbiota gastrointestinal en salud y enfermedad. *Gastroenterología y Hepatología*, 38 (7): 445-466.
- García-Pachón, E. (2017). Microbioma de la vía aérea inferior. *Medicina respiratoria*, 10 (1): 29-35
- García-Sánchez, J. E., Fresnadillo, M. J., y García-Sánchez, E. (2010). Nuevas bacterias anaerobias implicadas en enfermedades infecciosas humanas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28 (3): 173-184.
- García-Sánchez, J. E., García-Sánchez, E., Martín-del-Rey, Á., y García-Merino, E. (2015). Las bacterias anaerobias 150 años después de su descubrimiento por Pasteur. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33 (2):119-128.
- GBD (Global Burden of Disease). (2015). Mortalidad y Causas de Muerte. Esperanza de vida mundial, regional y nacional, mortalidad por todas las causas y mortalidad por causas específicas para 249 causas de muerte 1980–2015: un análisis sistemático para la carga global de Estudio de enfermedades. *Lancet* 2015, 388: 1459-1544.
- Gracia, J. C. (2018). Microbioma y asma. *ESPACIO ASMA*, 11 (1): 2.
- Granados, C. C. M. (2014). El sistema inmune en los mamíferos: Las defensas del cuerpo. *Nutrición Animal Tropical*, 8 (1): 80-93
- Gómez, A. L. (2012). *Estudio de la variabilidad genética, factores de virulencia y mecanismos de invasión del epitelio respiratorio humano durante la infección*

- por *Haemophilus influenzae* no tipable. Tesis Doctoral. Universidad de las Islas Baleares. Madrid, España, 205p.
- Gómez, C. C., Fernández, P. J., Navarro, M. J. M., y Gutiérrez, F. J. (2018). Infección emergente por *Moraxella osloensis*. A propósito de la infección genital *Revista española de quimioterapia: publicación oficial de la Sociedad Española de Quimioterapia*, 31 (2): 178–181.
- Gómez, E. M., Ramón, T. J. L., Pérez, M. L. y Blanco, J. R. (2019). El eje microbiota-intestino-cerebro y sus grandes proyecciones. *Rev. Neurol.* 68 (3): 111-117.
- Guarner, F. (2007). Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutrición Hospitalaria*, 22 (Supl. 2): 14-19.
- Guilarte, C. (2002). *Prevotella* sp. y *Porphyromonas* sp. en la Periodontitis del Adulto. *Acta Odontológica Venezolana*, 40 (2): 137-143.
- Guilarte, C, y Perrone, M. (2005). Bacterias Periodontopatógenas: Bacilos Anaerobios gran negativos como agentes Etiológicos de la Enfermedad Periodontal. *Acta Odontológica Venezolana*, 43 (2): 198-204.
- Helmreich, S. (2005). El espacio de la ciencia, del genoma humano al océano. *Ciencias*, 78: 18-24.
- Hernández, P. B. y Bobadilla, P. T. (2017). Bacterias del cuerpo: la lucha entre el bien y el mal. INECOL.
- Huang, Y. J. y Lynch, S. V. (2011). The emerging relationship between the airway microbiota and chronic respiratory disease: clinical implications. *Expert Rev Respir Med.* 5 (6): 809-21.
- Hurtado, C. A., Bojórquez, A. Y., Montañó, P. M. D. L., y López, M. J. A. (2017). Bacterias asociadas a enfermedades periodontales. *Oral*, 17 (54): 1374-1378.
- Icaza-Chávez, M. E. (2013). Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad. *Revista de Gastroenterología de México*, 78(4), 240-248.
- Ivanov, I.I. y Honda, K. (2012). Intestinal commensal microbes as immune modulators. *Cell Host Microbe*, 12 (4): 496-508.

- Krishna, P., Jain, A. y Bisen, P. S. (2016). Diversidad de microbiomas en el esputo de pacientes con tuberculosis pulmonar. *Revista europea de microbiología clínica y enfermedades infecciosas*, 35 (7).
- Krishnan, K., Chen, T., y Paster, B. J. (2017). A practical guide to the oral microbiome and its relation to health and disease. *Oral diseases*. 23 (3): 276-286.
- Kubota, H., Mitani, A., Niwano, Y., Takeuchi, K., Tanaka, A., Yamaguchi, N., Kawamura, Y. y Hitomi, J. (2012). Las especies de *Moraxella* son las principales responsables de generar malodor en la lavandería. *Microbiología Aplicada y Ambiental*, 78 (9), 3317–3324.
- Larsen, J. M. (2017). The immune response to *Prevotella* bacteria in chronic inflammatory disease. *Immunology*, 151 (4): 363-374.
- Leaños, M. B., Miranda, N. M. G., Solórzano, S. F., Ortiz, O. L. y Guiscafré, G. H. (2001). Prevalencia de colonización por *Moraxella catarrhalis* en portadores asintomáticos menores de seis años. *Salud Pública de México*, 43 (1): 27-31
- León, M. E., Kawabata, A., Nagai, M., Rojas, L., Chamorro, G., y Grupo del laboratorio VIMENE Paraguay (2019). Genotipos de *Neisseria meningitidis* aislados de pacientes con enfermedad meningocócica en Paraguay, 1996-2015. *Revista panamericana de salud publica*, 43 (1): e10.
- Leoni, G. M. E., Macías, B. B., Martín González, L., y Martínez Larrull, E. (2011). Infecciones respiratorias. *Medicine*, 10 (88).
- Li, K., Chen, Z., Huang, Y., Zhang, R., Luan, X., Lei, T. y Chen, L. (2019). La disbiosis del microbioma del tracto respiratorio inferior está asociada con la inflamación y la variedad de funciones microbianas. *Investigación respiratoria*, 20: 272-287.
- Liébana, J. (2002). Microbiología Oral. 2a Edición. Aravaca (Madrid): McGRAW-HILL INTERAMERICANA DE ESPAÑA, SAU.
- Lim, J. Y., Hwang, I., Ganzorig, M., Huang, S. L., Cho, G. S., Franz, C. M. A. P. y Lee, K. (2018). Secuencias completas del genoma de tres cepas de *Moraxella osloensis* aisladas de la piel humana. *Anuncios del genoma*, 6 (3).

- Linares, J., y Martín-Herrero, J. E. (2003). Bases farmacobiológicas del tratamiento antibiótico de las enfermedades periodontales y periimplatarias. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*, 15 (3): 139-147.
- Llop, H. A., Valdés-Dapena, V. M. M., y Zuazo, S. J. L. (2001). *Microbiología y Parasitología Médicas*. Tomo I. Editorial Ciencias Médicas.
- Lopardo, H., Predari, S., y Vay, C. (2016). Manual de microbiología clínica de la Asociación Argentina de Microbiología: Bacterias de Importancia Clínica. *Asociación Argentina de Microbiología*, Vol. I, 230p.
- López-Goñi, I. (2013). Microbioma: El primer mapa de nuestras bacterias, el segundo genoma humano. *Sem@foro*, 54: 1-2.
- Lubián-López, S. P., Galán-Sánchez, F., Rodríguez-Iglesias, M., y Benavente-Fernández, I. (2017). Empiema intraventricular piogénico por *Veillonella parvula* en un recién nacido prematuro. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 35 (8): 541–542.
- Luke, N. R., Howlett, A. J., Shao, J. y Campagnari, A. A. (2004). La expresión de pili tipo IV por *Moraxella catarrhalis* es esencial para la competencia natural y se ve afectada por la limitación de hierro. *Infección e inmunidad*, 72 (11): 6262-6270.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H., y Stahl, D. A. (2016). Brock: Microbiología de microorganismos. 14ª Ed. Editorial Artmed.
- Marchesi, J. R. y Ravel, J. (2015). The vocabulary of microbiome. research: A proposal. *Microbiome* 3: 31-33.
- Marchandin, H. (2003). Heterogeneidad intracromosómica entre las cuatro copias del gen 16S rRNA en el género *Veillonella*: implicaciones para la filogenia y la taxonomía. *Microbiología*, 149 (6): 1493-150.
- Márquez-Valdelamar, L. M, A. Serrato-Díaz y R. Cerritos-Flores. (2013). *Secuenciación de fragmentos de ADN*. En: Cornejo-Romero, A., Serrato-Díaz, A., Rendón-Aguilar, B. y Rocha-Munive, M. G. (eds.). Herramientas moleculares aplicadas en ecología: Aspectos teóricos y prácticos. SEMARNAT, INECC, UAM-I, 256p.

- Martínez-Aguilar, N. E., Vargas-Camaño, M. E., Hernández-Pliego, R. R., Chaia-Semerena, G. M., y Pérez-Chavira, M. D. R. (2017). Inmunopatología de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. *Revista Alergia México*, 64 (3): 327-346.
- Marriet, T.J., Poulin-Costello M., Beecroft M.D. y Herman-Gnjidic Z. (2005). Etiology of community-acquired pneumonia treated in an ambulatory setting. *Respir Med*. 90:60.
- Marriott, D., Stark, D. y Harkness, J. (2006). *Veillonella parvula* Discitis y bacteriemia secundaria: una infección rara que complica la endoscopia y la colonoscopia. *Journal of Clinical Microbiology*, 45 (2): 672–674.
- Marroquin, H. (2005). *Moraxella catarrhalis* in: Rodríguez, J. T., y Cohrs, D. P. (E.d.), *Microbiología: lo esencial y lo práctico*. OMS, 249p.
- Mathur, R., y Barlow, G. M. (2015). Obesity and the microbiome. *Expert Review of Gastroenterology y Hepatology*, 9 (8): 1087-1099.
- McCormack, J. E., Hird, S. M., Zellmer, A. J., Carstens, B. C., y Brumfield, R. T. (2013). Applications of next-generation sequencing to phylogeography and phylogenetics. *Molecular phylogenetics and evolution*, 66 (2): 526-538.
- Meisel, J. S. y Grice, E. A. (2017). El microbioma humano. *Medicina genómica y de precisión*, 63–77.
- Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social de Paraguay. (2018). Guía Nacional para el manejo de la Servicios de Salud locales, distritales, regionales y Unidades de Salud de la Familia. Guía Nacional para el manejo de la Tuberculosis. Décimo Quinta Edición, 160p.
- Molina, J. V., y Valverde-Fuentes, J. (2019). La disbiosis microbiana como origen precoz del asma. *Revista de asma*, 3 (2).
- Mollinedo, P. M. A., y Gonzáles, V. C. (2014). Bacterias Gram Negativas. *Revista de Actualización Clínica Médica*. 49: 2609.
- Montalvo, M. P., Vélez, J. L., Jara, F., Velarde, G., Vélez, P., y Paredes, J. (2018). Aclaramiento del lactato: revisión de la literatura. *Metro Ciencia*, 26 (1): 39-42.

- Montes, M., y Arenzana G. J. M. (2007). Género *Streptococcus*: una revisión práctica para el laboratorio de microbiología. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 25: 14-20.
- Morales, P., Brignardello, J., y Gotteland, M. (2010). La microbiota intestinal: Un nuevo actor en el desarrollo de la obesidad. *Revista médica de Chile*, 138 (8): 1020-1027.
- Mora, M. M. (1998). *Moraxella Catarrhalis* en tracto respiratorio inferior. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas*, 19 (3-4): 181-187.
- Morán, L. E. y Lazo A. Y. (2001). Tuberculosis. *Revista Cubana de Estomatología*, 38 (1): 33-51.
- Moreno del Castillo, M. C., Valladares-García, J., y Halabe-Cherem, J. (2018). Microbioma humano. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 61 (6): 7-19.
- Moreno, T. A. C., Martínez, S. L. M., Restrepo, A. M., y Jaramillo, J. L. I. (2016). *Streptococcus* spp. en el embarazo, patología y avances en su detección temprana. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*, 62 (2): 209-217.
- Morrison, D. J. y Preston, T. (2016). Formación de ácidos grasos de cadena corta por la microbiota intestinal y su impacto en el metabolismo humano. *Gut Microbes*, 7 (3): 189-200.
- Motas, M. I. (2001). *Neisserias* y *Moraxella catarrhalis* in: Llop, H. A., Valdés-Dapena, V. M. M., y Zuazo, S. J. L. (Ed.). *Microbiología y Parasitología Médicas. Tomo I*. Editorial Ciencias Médicas.
- Moya, A. S. (2017). Microbioma y secuenciación masiva. *Rev Esp Quimioter*, 30 (5): 305-311.
- Muñoz-Garach, A., Diaz-Perdigones, C., y Tinahones, F. J. (2016). Gut microbiota and type 2 diabetes mellitus. *Endocrinología y Nutrición*, 63 (10): 560-568.
- Murphy, T. F., Brauer, A. L., Schiffmacher, A. T. y Sethi, S. (2004). Persistent colonization by *Haemophilus influenzae* in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.*, 170: 266-272.

- Murphy, T. F., Brauer, A. L., Eschberger, K., Lobbins, P., Grove, L., Cai, X. y Sethi, S. (2008). *Pseudomonas aeruginosa* in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.*, 177: 853-860.
- Murray, P. R., Rosenthal, K., y Pfaller, M. (2017). *Microbiología médica* 8ª ed. Editorial Elsevier Health Sciences.
- Nagy, E. (2012). Infecciones anaerobias. *Drugs*, 70 (7): 841–858
- Namasivayam, S., Diarra, B., Diabate, S., Sarro, Y. D. S., Kone, A., Kone, B., Tolofoudie, M., Maya, B., Diakire, M. T., Kodio, O., Cohen, K., Holl, J., Achenbach, C. J., Chatterjee, S., Murphy, R. L., Bishai, W., Diallo, S., Sher, A. y Maiga, M. (2020). Patients infected with *Mycobacterium africanum* versus *Mycobacterium tuberculosis* possess distinct intestinal microbiota. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 14 (5): e0008230.
- Negróni, M. (2009). *Microbiología estomatológica*. Ed. Médica Panamericana.
- Noda, A., A., Vidal, T. L. A., Vidal, T. T. J. I, y Hernández, Á. L. (2011). *Streptococcus pneumoniae*, mecanismos de resistencia antimicrobiana. *Revista Cubana de Pediatría*, 83 (3): 288-295.
- Olsen, G. J., y Woese, C. R. (1993). Ribosomal RNA: a key to phylogeny. *The FASEB journal*, 7 (1): 113-123.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2019). Informe mundial sobre la tuberculosis. Sinopsis.
- Pachón, J., Falguera, M., Gudiol, F., Sabriá, M., Álvarez-Lerma, F., y Cordero, E. (2000). Infecciones en el tracto respiratorio inferior. *Protocolos clínicos SEIMC*, 11-17.
- Palma, L. M. E. (2017). Escrófula, forma frecuente de tuberculosis extrapulmonar. Presentación de un caso. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 16 (3): 387-394.
- Paneque, R. E., Rojas, R. L. Y. y Pérez, L. M. (2018). La Tuberculosis a través de la Historia: un enemigo de la humanidad. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 17 (3): 353-363.

- Pardi, G., Pérez, M. F., Pacheco, A. y De Mata H. M. (2004). Algunas consideraciones sobre *Neisseria gonorrhoeae*. *Acta Odontológica Venezolana*, 42 (2): 122-127.
- Pardi, G., Pérez, M. F., Pacheco, A. y De Mata H. M. (2005). Detección de *Neisseria gonorrhoeae* en mucosa orofaríngea de pacientes con infección gonocócica genital. *Acta Odontológica Venezolana*, 43 (3): 228-236.
- Pfaller, M., Murray, P., y Rosenthal, K. (2014). *Microbiología médica* (7 edn). Elsevier, España.
- Peña, R. T., Delgado, R. A. y Martínez, A. Y. (2007). Nociones actuales sobre la flora microbiana del surco gingival. *Revista Cubana de Estomatología*, 44 (3).
- Pérez de Rozas Ruiz de Gauna, A. M., (2015). Utilización de cepas de bacteroides spp. como probiótico en conejos. Tesis Doctoral en Medicina. Universidad Autónoma de Barcelona. UAB. España, 181p.
- Petrini, B. (2006). Mycobacterium abscessus: an emerging rapid-growing potential pathogen. *Apmis*, 114 (5): 319-328.
- Prescott, L.S. (2017). History of medicine: Origin of the term microbiome and why it matters. *Human Microbiome Journal*, 4: 24-25.
- Prevot A.R. (1938). Etudes de systematique bacterienne. *Ana. Inst. Pasteur* (París), 60: 285-307.
- Puchades, J. (2017). Cuida tus encías, tus pulmones te lo agradecerán. *Revista SEPA*, 12: 4-11
- Quesada-Gómez, C. (2010). Infecciones en humanos por bacterias anaerobias del género Bacteroides: actualización en aspectos taxonómicos, bioquímicos, inmunológicos, patogénicos y clínicos. *Revista Biomédica*, 21 (2): 89-96.
- Reyes, V. R. V., Ávila, M. G. F., y Gómez, P. B. A. (2013). Tratamiento de heridas por mordeduras de perro en región craneofacial. *Revista odontológica mexicana*. 17 (4): 247-255.
- Río, T. M. (2017). La Oftalmología desde la antigüedad. *Revista Cubana de Oftalmología*, 30 (2): 1-16.
- Rivero, J. L. G. (2017). Actualización en el conocimiento del microbioma en el asma. *Revista de asma*, 2 (2).

- Rodicio M. R. y Mendoza, M. C. (2004). Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 22 (4): 238-245.
- Rodríguez, F. D. A., Vázquez, M. L., y Ramos, C. M. G. (2005). Actividad antimicrobiana de la lactoferrina: Mecanismos y aplicaciones clínicas potenciales. *Revista latinoamericana de Microbiología*, 47 (3-4): 102-111.
- Rodríguez, J. T., y Cohrs, D. P. (2005). Microbiología: lo esencial y lo práctico. OMS, 73-74.
- Rodríguez, F. F. (2012). Enfermedad periodontal y microorganismos periodontopatógenos. *Odous Científica*, 4 (1).
- Rosales M. Y. (2013). Manual de Diagnóstico Microbiológico de *Moraxella catarrhalis*. Tesis de Doctorado en QFB. Facultad de Ciencias. UNAM. México, 131p.
- Ruiz, Á. V., Puig, P. Y. y Rodríguez, A. M. (2010). Microbiota intestinal, sistema inmune y obesidad. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 29 (3): 364-397
- Ruiz, A. J., Medina, B. M., Del Prado, M. C., Linares, L. M. C., Rodríguez, I. M. A. y Cejudo, C.O. (2019). Úlcera ocular por *Moraxella nonliquefaciens*. *Revista española de quimioterapia : publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Quimioterapia*, 32 (1): 87–88.
- Sakamoto, M., Huang, Y., Umeda, M., Ishikawa, I., y Benno, Y. (2002). Detection of novel oral phylotypes associated with periodontitis. *FEMS microbiology letters*, 217 (1): 65-69.
- Sakamoto, M., Suzuki, M., Huang, Y., Umeda, M., Ishikawa, I., y Benno, Y. (2004). *Prevotella shahii* sp. nov. and *Prevotella salivae* sp. nov., isolated from the human oral cavity. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 54 (3): 877-883.
- Sakamoto, M., Kumada, H., Hamada, N., Takahashi, Y., Okamoto, M., Bakir, M. A., y Benno, Y. (2009). *Prevotella falsenii* sp. nov., a *Prevotella intermedia*-like

- organism isolated from monkey dental plaque. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 59 (2): 319-322.
- Sakamoto, M., Suzuki, N., y Okamoto, M. (2010). *Prevotella aurantiaca* sp. nov., isolated from the human oral cavity. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 60 (3): 500-503.
- Sala, C., Benjak, A., Goletti, D., Banu, S., Mazza-Stadler, J., Jatou, K., Busso, P., Remm, S., Leleu, M., Rougemont, J., Palmieri, F., Cuzzi, G., Butera, O., Vanini, V., Kabir, S., Rahman, M. S. M., Nicod, L. y Cole, T. S. (2020). Análisis multicéntrico de la microbiota del esputo en pacientes con tuberculosis. *PLOS ONE*, 15 (10): e0240250.
- Sanger, F., S. Nicklen, y A. R. Coulson. (1977). DNA sequencing with chain terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci.*, 74 (12): 5463-5467.
- Sanchén, C. A., Rodríguez H. O. I., Torres, F. L. D. y Cordero, R. M. (2010). Caracterización epidemiológica y microbiológica de las meningoencefalitis bacterianas. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 14 (3).
- Sánchez, C. P., y Naranjo, O. R. (2015). Infecciones respiratorias. Vol. 22. NEUMOMADRID. Madrid, España, 162p.
- Sánchez, B. P., Muñoz, M. R., y Gutiérrez, M. N. P. (2012). Resistencia bacteriana a los antibióticos. *Spei Domus*, 8 (17).
- Sánchez, F., Castaño, I., Linde, F. y Gil, J. (2003). Abscesos pulmonares por *Prevotella oralis* y *Prevotella ruminicola* en paciente VIH. *Anales De Medicina Interna*, 20 (3): 1-14.
- Scheiman, J., Lubner, J. M., Chavkin, T. A., MacDonald, T., Tung, A., Pham, L.-D., Wibowo, M. C., Wurth, R.C., Punthambaker, S., Tierney, B.T., Yang, Z., Hattab, M.W., Ávila-Pacheco, J., Clish, C.B., Lessard, S., Church G.M. y Kostic, A. D. (2019). *El análisis metaómico de los atletas de élite identifica un microbio que mejora el rendimiento y que funciona a través del metabolismo del lactato*. *Nature Medicine*, 25 (7): 1104-1109.
- Sebastián-Domingo, J. J., y Sánchez-Sánchez, C. (2018). De la flora intestinal al microbioma. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 110 (1): 51-56.

- Sekirov, I., y Finlay, B. B. (2009). The role of the intestinal microbiota in enteric infection. *The Journal of physiology*, 587 (17): 4159-4167.
- Sender, R., Fuchs, S. y Milo, R. (2016). Estimaciones revisadas para el número de células humanas y de bacterias en el cuerpo. *PLoS biology*, 14 (8).
- Shrestha, P., Penninkilampi, R. y Eslick, GD (2019). El microbioma esofágico. *Enfermedades gastrointestinales y sus infecciones asociadas*, 1-16.
- Singh, B., Al-Jubair, T., Voraganti, C., Andersson, T., Mukherjee, O., Su, Y. C., Zipfel, P. y Riesbeck, K. (2015). *Moraxella catarrhalis* Binds Plasminogen To Evade Host Innate Immunity. *Infection and Immunity*, 83 (9): 3458–3469.
- Shah, H. y Collins, M. (1990). Prevotella, a new genus to include bacteroides melaninogenicus and related species formerly classified in the genus bacteroides. *Int. J. Syst. Bacteriol*, 40 (2): 205-208.
- Slots, J y Taubma, M. (1992). *Contemporary Oral Microbiology and Immunology*. 1ed. St. Louis USA. Editorial Mosby.
- Simón, C. I. (2012). Caracterización de bacterias heterótrofas de bioaerosoles colectados en tres puntos del distrito federal. Tesis de Licenciatura en Biología. UAM-Xochimilco. México, 45p.
- Sommer, M. O., Dantas, G., y Church, G. M. (2009). Functional characterization of the antibiotic resistance reservoir in the human microflora. *Science*, 325 (5944): 1128-1131.
- Somogyi, Teresita, Alfaro, Wilber, Herrera, Marco L, y Herrera, José F. (1998). Infecciones del tracto respiratorio: etiología bacteriana y viral en una población pediátrica. *Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera*, 33 (1-2): 5-18.
- Spector, M. P. (2009). Metabolismo central (intermedio). *Enciclopedia de microbiología*, 242-264.
- Spellerberg, B. y Brandt, C. (2015). *Streptococo*. Manual de microbiología clínica, 383-402p.
- Suárez, M. A. (2017). Microbioma y secuenciación masiva. *Revista Española de Quimioterapia*, 30 (5): 305-311.

- Swearingen, E. B. (2013). The effects of SeLECT defense™ orthodontic brackets on the formation, composition, and metabolism of oral microflora: An in vitro study, *ProQuest*.
- Sze, M. A., Dimitriu, P. A., Hayashi, S., Elliott, W. M., McDonough, J. E., Gosselink, J. V., Cooper, J., Sin, D. D., Mohn, W. W. y Hogg, J. C. (2012). The lung tissue microbiome in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 185 (10): 1073-1080.
- Tapia, J. A. R. (2002). Ecología microbiana del tracto digestivo em la etapa neonatal. *Revista Mexicana de Pediatría*, 69: 257-260.
- Tomás, I., Camelo, A., y Balsa, C. (2016). Nuevo modelo de patogenia de la periodontitis crónica: de la enfermedad infecciosa a la disbiosis polimicrobiana. *RCOE*, 21 (3): 131-145.
- Thomas, S., Izard, J., Walsh, Walsh, E., Batich, K., Chongsathidkiet, P., Clarke, G., Sela, D. A., Muller, J. A., Mullin, M., Korin, A., Gilligan, J. P., DiGuilio, K., Dilbarova, R., Walker, A. y Prendergast, G. C. (2017). The host microbiome regulates and maintains human health: a primer and perspective for non-microbiologists. *Cancer research*, 77 (8): 1783-1812.
- Ulrich, M., Beer, I., Braitmaier, P., Dierkes, M., Kummer, F., Krismer, B., Schumacher, U., pler-Mainka U.G., Riethmu"ller, J., Jensen, P., Bjarnsholt, T., Høiby, N., Bellon, G. y Do"ring G. (2010). Relative contribution of *Prevotella intermedia* and *Pseudomonas aeruginosa* to lung pathology in airways of patients with cystic fibrosis. *Thorax*, 65 (11): 978-984.
- Unemo, M., Ballard, R., Ison, C., Lewis, D., Ndowa, F., y Peeling, R. (2014). Diagnóstico de laboratorio de las infecciones de transmisión sexual, incluida la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Organización Mundial de la Salud*.
- Valero, Y., Colina, J., y Herrera, H. (2015). La microbiota intestinal y su rol en la diabetes. *Anales Venezolanos de Nutrición: Venezuela*, 28 (2): 132-144.
- Van Putten, J. y Tonjum, T. (2017). *Neisseria in: (Ed.), Infectious Diseases, 4th Edition, Volume 2. Elsevier, España*.

- Velasco, J., Araque, M.C., Araujo, E., Longa, A., Nieves, B., Ramírez, A. C., Sánchez, K. y Velasco, E. (2011). Manual práctico de bacteriología clínica. *Venezuela: CODEPRE*, 206p.
- Vidal-Granel, J. E. (2003). Bacterias patógenas en el ser humano: Importancia de la virulencia bacteriana. *Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Tabasco*, 1665 (3505): 8-14.
- Visag, C. M. (2012). Sistema activador del plasminógeno en la enfermedad periodontal. *Odontología sanmarquina*, 15 (1): 39-43.
- Wilks, J., y Golovkina, T. (2012). Influence of microbiota on viral infections. *PLoS pathogens*, 8 (5):1-3.
- Willyard, C. (2011) Microbioma: reacción intestinal. *Nature*, 479, S5 – S7.
- Winglee, K., Eloie-Fadros, E., Gupta, S., Guo, H., Fraser, C., y Bishai, W. (2014). Aerosol Mycobacterium tuberculosis infection causes rapid loss of diversity in gut microbiota. *PloS one*, 9 (5): 1-9.
- Wu, J., Liu, W., He, L., Huang, F., Chen, J., Cui, P., Shen, Y., Zhao, J., Wang, W., Zhang, Y., Zhu, M., Zhang, W., y Zhang, Y. (2013). Sputum microbiota associated with new, recurrent and treatment failure tuberculosis. *PloS one*, 8 (12): 1-11.
- Yamada T, Shimizu K, Ogura H, Asahara T, Nomoto K, Yamakawa K (2015). Rapid and sustained long-term decrease of fecal short-chain fatty acids in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.*, 39: 569-77.
- Zambrano, M. A., y Londoño, L. S. (2006). Biofilms bacterianos: sus implicaciones en salud y enfermedad. *Universitas Odontológica*, 25 (57): 19-25.
- Zamorano, R., J., Porte, T. L., Peláez, D. J. M., y Varela A. C. (2002). Manifestaciones inusuales de la infección por *Neisseria*. *Revista chilena de infectología*, 19 (3): 174-180.
- Zamudio-Vázquez, V. P., Ramírez-Mayans, J. A., Toro-Monjaraz, E. M., Cervantes-Bustamante, R., Zárate-Mondragón, F., Montijo-Barrios, E., Cadena-León, J. F. y Cázares-Méndez, J. M. (2017). Importancia de la microbiota gastrointestinal en pediatría. *Acta pediátrica de México*, 38 (1): 49-62.

ANEXO 1

Relación de la abundancia relativa de muestras de esputo de pacientes con Tuberculosis pulmonar y controles sanos.

Phylum	Genera	Rel Ab (%) TB	Rel Ab (%) Healthy	P value TB vs NoTB	P value Sen vs Res	Treat vs healthy	P Treat vs no Treat
Firmicutes	Streptococcus	33.5	17.25	0.0188	0.4905	0.0259	0.5784
Proteobacteria	<i>Neisseria</i>	13.45	4.63	0.710	0.761	0.680	0.7659
Proteobacteria	<i>Moraxella</i>	4.00	0.00	0.298	0.392	0.232	0.438
Bacteroidetes	<i>Prevotella 7</i>	5.10	10.80	0.0057	0.025	0.0259	0.1771
Firmicutes	<i>Veillonella</i>	4.90	10.01	0.0039	0.1944	0.0083	0.321
Fusobacteria	<i>Leptotrichia</i>	3.36	1.77	0.257	0.394	0.2829	0.218
Firmicutes	<i>Gemella</i>	2.62	1.56	0.433	0.0065	0.563	0.6057
Fusobacteria	<i>Fusobacterium</i>	2.21	3.11	0.1274	0.839	0.2609	0.842
Bacteroidetes	<i>Prevotella</i>	2.56	6.37	0.001	0.72	0.0065	0.0352
Firmicutes	<i>Granulicatella</i>	2.03	1.97	0.654	0.502	0.869	0.0740
Bacteroidetes	<i>Alloprevotella</i>	1.98	4.50	0.0065	0.5694	0.069	0.111
Bacteroidetes	<i>Porphyromonas</i>	1.71	2.88	0.256	0.1942	0.173	0.3208
Actinobacteria	<i>Rothia</i>	1.41	3.24	0.0455	0.1942	0.0317	0.427
Proteobacteria	<i>Ralstonia</i>	1.11	0.00	0.0067	0.0796	0.002157	0.1828
Actinobacteria	<i>Mycobacterium</i>	0.91	0.00	0.0011	0.903	0.0004	0.499
Proteobacteria	<i>Pseudomonas</i>	0.56	0.013	0.156	0.0267	0.149	0.674
Proteobacteria	<i>Haemophilus</i>	0.37	0.81	0.069	0.0406	0.166	0.723

Datos proporcionados por © ESH